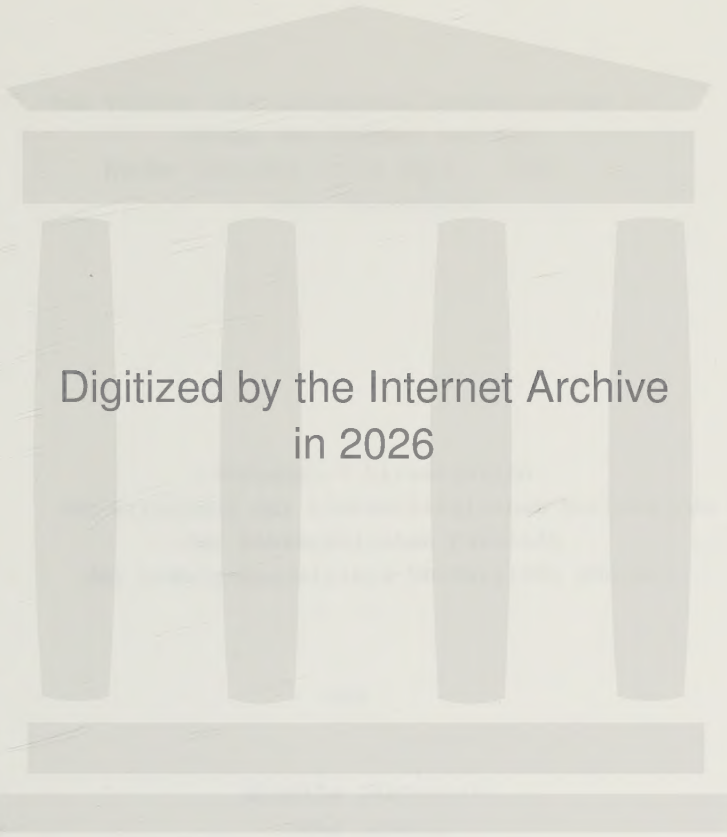


ZUM VERLAUF DER GENTAMYCIN-KONZENTRATION
IN SERUM UND GEWEBE BEI DER TAUBE
(COLUMBA LIVIA GMEL., 1789 VAR. DOMESTICA)

SIBYLLE SABRAUTZKI

Diss. München
1984



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554007_0062

Aus dem Institut für Geflügelkrankheiten
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof.Dr.Josef Kösters

Zum Verlauf der Gentamycin-Konzentration in
Serum und Geweben bei der
Taube (*Columba livia* Gmel., 1789
var. domestica)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Sibylle Sabrautzki
aus Coburg

München 1983

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl
Referent: Prof. Dr. J. Kösters
Korreferent: Prof. Dr. W. Rössner

Tag der Promotion: 24. Februar 1984

Herstellung: Hieronymus Buchreproduktions GmbH, München

1. Die Bedeutung der Dankbarkeit	1
2. Die Entwicklung der Dankbarkeit	2
3. Die Rolle der Eltern	3
4. Die Rolle der Schule	4
5. Die Rolle der Gesellschaft	5
6. Die Rolle der Religion	6
7. Die Rolle der Kunst	7
8. Die Rolle der Wissenschaft	8
9. Die Rolle der Politik	9
10. Die Rolle der Wirtschaft	10
11. Die Rolle der Kultur	11
12. Die Rolle der Familie	12

Meinen Eltern und Wolfgang in Dankbarkeit

13. Die Rolle der Literatur	13
14. Die Rolle der Musik	14
15. Die Rolle der Philosophie	15
16. Die Rolle der Psychologie	16
17. Die Rolle der Soziologie	17
18. Die Rolle der Anthropologie	18
19. Die Rolle der Biologie	19
20. Die Rolle der Chemie	20
21. Die Rolle der Physik	21
22. Die Rolle der Astronomie	22
23. Die Rolle der Geographie	23
24. Die Rolle der Geschichte	24
25. Die Rolle der Ethik	25
26. Die Rolle der Ökonomie	26
27. Die Rolle der Medizin	27
28. Die Rolle der Rechtswissenschaft	28
29. Die Rolle der Pädagogik	29
30. Die Rolle der Erziehungswissenschaft	30
31. Die Rolle der Sportwissenschaft	31
32. Die Rolle der Gesundheitswissenschaft	32
33. Die Rolle der Umweltwissenschaft	33
34. Die Rolle der Informationswissenschaft	34
35. Die Rolle der Kommunikationswissenschaft	35
36. Die Rolle der Medienwissenschaft	36
37. Die Rolle der Politikwissenschaft	37
38. Die Rolle der Soziologie	38
39. Die Rolle der Anthropologie	39
40. Die Rolle der Biologie	40
41. Die Rolle der Chemie	41
42. Die Rolle der Physik	42
43. Die Rolle der Astronomie	43
44. Die Rolle der Geographie	44
45. Die Rolle der Geschichte	45
46. Die Rolle der Ethik	46
47. Die Rolle der Ökonomie	47
48. Die Rolle der Medizin	48
49. Die Rolle der Rechtswissenschaft	49
50. Die Rolle der Pädagogik	50
51. Die Rolle der Erziehungswissenschaft	51
52. Die Rolle der Sportwissenschaft	52
53. Die Rolle der Gesundheitswissenschaft	53
54. Die Rolle der Umweltwissenschaft	54
55. Die Rolle der Informationswissenschaft	55
56. Die Rolle der Kommunikationswissenschaft	56
57. Die Rolle der Medienwissenschaft	57
58. Die Rolle der Politikwissenschaft	58
59. Die Rolle der Soziologie	59
60. Die Rolle der Anthropologie	60
61. Die Rolle der Biologie	61
62. Die Rolle der Chemie	62
63. Die Rolle der Physik	63
64. Die Rolle der Astronomie	64
65. Die Rolle der Geographie	65
66. Die Rolle der Geschichte	66
67. Die Rolle der Ethik	67
68. Die Rolle der Ökonomie	68
69. Die Rolle der Medizin	69
70. Die Rolle der Rechtswissenschaft	70
71. Die Rolle der Pädagogik	71
72. Die Rolle der Erziehungswissenschaft	72
73. Die Rolle der Sportwissenschaft	73
74. Die Rolle der Gesundheitswissenschaft	74
75. Die Rolle der Umweltwissenschaft	75
76. Die Rolle der Informationswissenschaft	76
77. Die Rolle der Kommunikationswissenschaft	77
78. Die Rolle der Medienwissenschaft	78
79. Die Rolle der Politikwissenschaft	79
80. Die Rolle der Soziologie	80
81. Die Rolle der Anthropologie	81
82. Die Rolle der Biologie	82
83. Die Rolle der Chemie	83
84. Die Rolle der Physik	84
85. Die Rolle der Astronomie	85
86. Die Rolle der Geographie	86
87. Die Rolle der Geschichte	87
88. Die Rolle der Ethik	88
89. Die Rolle der Ökonomie	89
90. Die Rolle der Medizin	90
91. Die Rolle der Rechtswissenschaft	91
92. Die Rolle der Pädagogik	92
93. Die Rolle der Erziehungswissenschaft	93
94. Die Rolle der Sportwissenschaft	94
95. Die Rolle der Gesundheitswissenschaft	95
96. Die Rolle der Umweltwissenschaft	96
97. Die Rolle der Informationswissenschaft	97
98. Die Rolle der Kommunikationswissenschaft	98
99. Die Rolle der Medienwissenschaft	99
100. Die Rolle der Politikwissenschaft	100

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	<u>Seite</u>	
1.	Einleitung	1
2.	Literatur	2
2.1	Geschichte	2
2.2	Gentamycin	2
2.2.1	Pharmakologie	2
2.2.1.1	Struktur	2
2.2.1.2	physikalisch-chemische Eigenschaften	3
2.2.2	Wirkungsmechanismen	4
2.2.3	Resistenzen	6
2.2.3.1	Kreuzresistenz	6
2.2.4	Kombinationen, Synergismus	6
2.2.5	Antagonismus	6
2.2.6	Pharmakokinetik	7
2.2.6.1	Halbwertszeit	9
2.2.6.2	Ausscheidung	10
2.2.6.3	Konzentration	10
2.2.6.4	Verteilung im Organismus	11
2.2.7	Toxizität	12
2.2.7.1	Ototoxizität	12
2.2.7.2	Nephrotoxizität	13
2.2.8	Dosierungen	13
2.2.9	Therapeutisch wirksamer Blutspiegel	14
2.2.10	Anwendung in der Humanmedizin	16
2.2.11	Anwendung in der Veterinärmedizin	16
2.2.12	Nachweisverfahren	17
2.3	Salmonellose	18
3.	Material und Methode	19
3.1	Material	19
3.1.1	Versuchstiere	19
3.1.1.1	Unterbringung der Versuchstiere und Fütterung	19
3.1.2	Serum	20
3.1.3	Sporensuspension	20
3.1.4	Salmonellen	20
3.1.5	Organe	20

	<u>Seite</u>
3.1.6	Firmenpräparate Gentamycin 21
3.1.7	Agar 22
3.1.8	Standard für Hemmstofftest 22
3.1.9	TD _x - System/Abbott 22
3.1.10	Photometer 23
3.1.11	Homogenisator 23
3.2	Methode 23
3.2.1	Berechnung der Dosis 23
3.2.2	Injektion und Blutentnahme 24
3.2.3	Serumgewinnung und -lagerung 24
3.2.4	Agardiffusionstest 24
3.2.5	Herstellung des Standards 25
3.2.6	Entnahme der Gewebeproben 29
3.2.7	Einstellung der Salmonellen-Keimdichte 29
3.2.8	Infektion mit Salmonellen 30
3.2.9	Einfrieren 30
3.2.10	Histologie 30
3.2.11	Funktionsprinzip des TD _x - Systems 30
4.	Versuchsplanung 33
4.1	Versuch I 33
4.2	Versuch II 33
4.3	Versuch III 34
4.4	Versuch IV 34
4.5	Versuch V 34
5.	Ergebnisse 35
5.1	Versuch I 35
5.2	Versuch II 39
5.3	Versuch III 43
5.4	Versuch IV 45
5.4.1	Gewebsveränderungen durch G. 47
5.5	Versuch V 49
5.5.1	Pathologie 50
5.5.2	Histologie 51
5.5.2.1	Histologie von mit Salmonellen infizierten 51 verendeten Tieren

5.5.2.2	Histologie von mit Salmonellen infizierten und	52
	mit Gentamycin behandelten Tieren	
5.5.3	Blut- und Gewebespiegel	53
6.	Diskussion	56
7.	Zusammenfassung	63
	Summary	65
	Resumen	67
8.	Literatur	68
9.	Kürzelverzeichnis	77

1. Einleitung

Mit zunehmender Intensivierung der Geflügelhaltung hat die Bekämpfung von Infektionen durch gramnegative und grampositive Bakterien eine besondere Bedeutung. Während beim Wirtschaftsgeflügel in der Regel eine breit gefächerte Prophylaxe möglich ist, die schon die Bruteier und Jungvögel mit einschließt, ist in der Taubenzucht meist eine individuell ausgelegte Therapie notwendig, zumal es sich hier meist um eine "Liebhaberzucht" handelt und die finanziellen Belastungen in Grenzen gehalten werden müssen. Unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte benötigt man ein injizierbares Antibiotikum, das genau zu dosieren ist, ein breites Wirkungsspektrum besitzt und schnell wirksam ist, um effektiv therapieren zu können. Wegen der auch in der Vogelpraxis zu beobachtenden Resistenzen gegen die verfügbaren Antibiotika ist der Tierarzt gezwungen, ständig nach neuen Präparaten zu suchen, auch wenn diese nicht für Vögel ausdrücklich arzneimittelrechtlich zugelassen sind. Eine solche Substanz ist Gentamycin, das im Antibiotogramm bei vielen Isolaten gramnegativer Bakterien als einziges eine ausreichende Wirksamkeit zeigt. Der Verlauf von Blut- und Gewebsspiegeln dieses Antibiotikums wurde bisher bei Tauben und anderen Vögeln nur wenig untersucht, und es kam wegen der anderen Stoffwechsellage bei diesen Tieren oft zu Ausfällen, wenn Dosierungen von Kleintieren auf den Vogel bezogen wurden. Angaben über Dosierung und Nachdosierungsintervalle für Vögel sind von den entsprechenden Herstellern von Injektionslösungen nur unbefriedigend gemacht worden. Daher sind gerade für die Taube als oft wertvolles Zucht- und Liebhabertier Untersuchungen über den Verlauf des Gentamycin-Blutspiegels wichtig geworden.

2. Literatur

2.1 Geschichte

Gentamycin (G.) wurde 1963 von WEINSTEIN aus *Micromonospora purpurea* spp. isoliert (Forschungslaboratorien der Schering Corporation). Die Herstellung der ersten Injektionsformula erfolgte 1969. Hinsichtlich der Schreibweise sind sowohl Gentamycin als auch Gentamicin gebräuchlich.

2.2 Gentamycin

2.2.1 Pharmakologie

2.2.1.1 Struktur

Das zur Gruppe der Aminoglykosidantibiotika gehörende G. ist ein basisches Oligopolysaccharid mit einem Molekulargewicht von ca. 425.

Die 5 Hauptfraktionen des G. werden als A, B, C₁, C₂ und D bezeichnet. Aus den insgesamt 16 Komponenten, die nach chromatographischer Trennung von Kulturfiltrat-Präparaten differenziert werden, ergibt sich die Summenformel $C_{19-21}H_{38-42}O_7N_5$ (Abb.1).

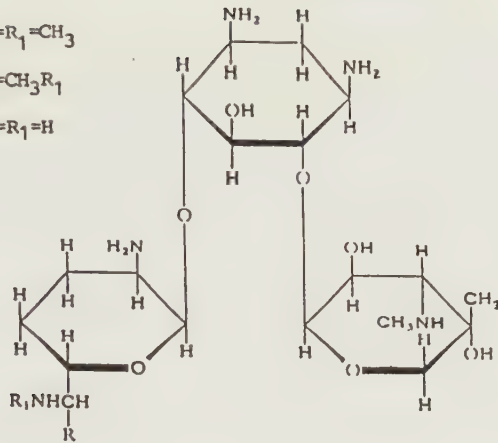
Sein Wirkstoffkomplex setzt sich aus 3 G.-Arten zusammen, die sich durch verschiedene Gruppen des Aminoglykosids unterscheiden, aber gleiche Wirksamkeit besitzen. Der prozentuale Anteil am Wirkstoffkomplex beträgt für C₁ 29,5%, C_{1a} 27,8% und für C₂ 42,7% (WALTER u. HEILMEYER 1969).

G. ist chemisch mit anderen Aminoglykosid-Antibiotika der Neomycin-Kanamycin-Gruppe verwandt.

Gentamicin C₁: R=R₁=CH₃

Gentamicin C₂: R=CH₃R₁

Gentamicin C_{1a}: R=R₁=H



G.-Sulfat

Abb. 1 Strukturformel von G. (JONES et al. 1977)

2.2.1.2 Physikalisch-chemische Eigenschaften

G. ist als Sulfat-Salz mit über 20 mg/kg in Wasser farblos löslich, ebenso gut in Formamid, Äthylenglykol, 0,1 n-NaOH und -HCl, weniger oder gar nicht löslich in organischen Lösungen (WALTER u. HEILMEYER 1969), ebenso wenig in Lipiden. Die Lösungen sind stabil, im alkalischen Bereich besteht eine erhöhte antibakterielle Wirksamkeit.

Die antibakterielle Wirkung bleibt auch bei Hitze und Einwirkung von bakteriellen Enzymen erhalten (GYSELYNCK et al. 1971), ebenso bei Gefrierschranktemperaturen.

2.2.2 Wirkungsspektrum

Als Breitbandantibiotikum ist G. gegen die meisten gramnegativen und gegen viele grampositive Erreger wirksam.

Keime, die mit einem Blutspiegel von unter 2 µgG./ml Serum gehemmt werden, gelten als vollsensibel. Benötigen sie über 3 µg, gelten sie als schwach bzw. kaum empfindlich, bei über 10 µgG./ml Serum als unempfindlich (WALTER u. HEILMEYER 1969).

VERNIMB et al. (1976) fanden bei 99 % der von ihnen aus klinischen Fällen isolierten Stämme eine Empfindlichkeit gegen G. in einer Konzentration von 10 µg. Die Untersuchung wurde nach der KIRBY-BAUER-Methode durchgeführt.

Darunter befanden sich Citrobacter, Enterobacter, Escherichia coli, Klebsiella, Proteus, Pseudomonas, Salmonella und andere. Dabei war G. wirksamer als z.B. Tetracyclin, Nitrofurazon, Chloramphenicol, Neomycin, Penicillin, Polymixin, Kanamycin und Ampicillin. Es verringerte sich jedoch die Wirksamkeit, je länger die Infektion bestand.

16 klinisch isolierte Salmonellen-Stämme erwiesen sich in vitro empfindlich gegen 3,125 µg G/ml oder weniger (VERNIMB et al. 1975). Gramnegative Keime wie E. coli, Salmonellen, Klebsiellen, Pseudomonas u.a. werden in vitro bei Konzentrationen von unter 4 µg/ml zu 80% bis über 90% gehemmt (WALTER u. HEILMEYER 1969).

Das Spektrum umfaßt auch in niedrigen Wirkstoffkonzentrationen grampositive resistente und empfindliche Staphylokokken und β -hämolsierende Streptokokken (BLACK et al. 1963) (Abb. 2).

G. bewirkt eine höhere Quote eines "misreading-Effekts" an der m-RNS und verfälscht dadurch bei proliferierenden Keimen die Proteinsynthese durch Änderung des Aminosäuren-Einbaus.

Die Wirkungsweise von G. ist bakteriostatisch, bei höherer Konzentration bakterizid. Die bakterizide Wirkung trifft die Keime sowohl in der Proliferations-Phase als auch im Ruhestadium (WALTER u. HEILMEYER 1969).

Das Wirkungsoptimum liegt bei pH 7,8. Bei pH 6,6 ist eine 2-4fach höhere, bei pH 5,5 eine bis über 30fach höhere Wirkstoffkonzentration erforderlich (WALTER u. HEILMEYER 1969).

Anzahl der empfindlichen Stämme

Bakterienstämme

	G	CL	D	T	Nz	C	N	P	PB	K	A	CD
Arizona sp. (4)	4	0	4	4	4	4	4	0	4	4	3	4
Citrobacter sp. (20)	20	1	15	17	19	19	19	2	17	18	10	8
Enterobacter sp. (33)	33	2	17	19	33	33	33	2	33	33	15	28
Escherichia coli (95)	95		33	41	94	95	89	0	92	87	80	92
Klebsiella sp. (13)	13	0	8	8	13	13	13	0	12	13	1	11
Proteus sp. (49)	49	0	38	15	40	43	47	5	4	47	23	27
Pseudomonas sp. (6)	6	0	3	1	0	1	4	0	6	1	0	0
Salmonella sp. (15)	15	0	6	10	15	15	15	0	15	15	12	14
Others* (23)	20	4	7	13	15	20	18	13	11	15	20	18
Total (258)	255	8	131	128	239	243	242	22	194	233	170	202
Empfindlichkeit in %	99	3	51	50	93	94	94	8	75	90	66	78

Antibiotics as abbreviated:

G, gentamicin (10 µg)
 CL, clindamycin (2 µg)
 D, dihydrostreptomycin (10 µg)
 T, tetracycline (30 µg)
 Nz, nitrofurazone (100 µg)
 C, chloramphenicol (30 µg)

*Others:

N, neomycin (30 µg)
 P, penicillin (10 units)
 PB, polymyxin B (300 units)
 K, kanamycin (30 µg)
 A, ampicillin (10 µg)
 CD, cephaloridin (30 µg)
 Achromobacter sp. (5)
 Alcaligenes sp. (20)
 Bacillus sp. (3)
 Corynebacterium sp. (1)
 Edwardsiella sp. (2)
 Flavobacterium sp. (4)
 Serratia sp. (1)
 Staphylococcus sp. (1)
 Streptococcus sp. (1)
 Yersinia sp. (1)

Abb. 2 Empfindlichkeit von 258 Erregerstämmen vom Huhn gegen verschiedene Antibiotika (entnommen von VERNIMB et al. 1976).

2.2.3 Resistenzen

In vitro kann eine langsame stufenweise Resistenzsteigerung bewirkt werden, nach 10-15 Kulturpassagen sind dann Resistenzwerte um das 40- bis über 800fache der Ausgangswerte möglich (WALTER u. HEILMEYER 1969).

In vivo sind Resistenzen sehr selten. WEINSTEIN et al. (1971) beschreiben solche Resistenzen als Charakteristikum für manche Stämme von *Pseudomonas*, *Klebsiella* und *Escherichia coli*.

2.2.3.1 Kreuzresistenz

WALTER u. HEILMEYER (1969) bewiesen bei Erregern, die in vitro G.-resistent gezüchtet wurden, eine Kreuzresistenz zu Neomycin, Kanamycin, Paromomycin und Streptomycin. Dies ist wahrscheinlich durch einen gemeinsamen Deoxystreptamin-Kern bedingt. Andererseits sind Streptomycin- und Kanamycin-resistente Keime manchmal G.-sensibel.

2.2.4 Kombinationen, Synergismus

Eine Kombination von 20 µg Penicillin/ml + 4µg G./ml wirkte in vitro bei 33 Enterokokkenstämmen synergistisch (WATANAKUNAKORN 1971). WALTER u. HEILMEYER (1969) geben hingegen an, daß bei einer Mischung von G. mit Penicillin oder Cephalothin G. zu 15-50% inaktiviert wird.

G. verstärkt die Wirkung von neuromuskulär blockierenden Substanzen, von Anästhetika und die muskelerschlaffende Wirkung von Magnesium (JONES et al. 1977).

2.2.5 Antagonismus

Wenn eine Mischung aus 5 und 10 µg/G./ml und 500 µg Carbenicillin/ml stehengelassen wird, verringert sich dadurch die antibakterielle Wirksamkeit von G. Eine langsamere Verminderung findet

statt, wenn in der Mischung nur 50 und 100 µg Carbenicillin/ml vorhanden sind (WINTERS et al. 1971). Daher sollte man diese beiden Substanzen grundsätzlich nicht mischen oder, wenn eine Mischung aus irgendwelchen Gründen erforderlich ist, für eine Kurzzeittherapie sofort applizieren. Bei einer getrennten Verabreichung wird die Wirkung des G. nur wenig beeinflusst. Eine gleichzeitige Applikation von Chloramphenicol, Tetracyclin oder Colistin führt manchmal zu einer Herabsetzung der antibakteriellen Wirksamkeit von G. (WALTER u. HEILMEYER 1969). Verwendet man zur Agardiffusion mit Staphylococcus aureus als Testkeim heparinisiertes Blut, werden die Ergebnisse in Form eines verminderten Plasmaspiegels verfälscht, sofern über 50 U Heparin/ml in der Probe vorhanden sind, da die Messung in Gegenwart des Heparins ungenau wird. Die antibakterielle Aktivität des G. wird dabei allerdings nicht beeinträchtigt. Der Mechanismus dieser Reaktion beruht wahrscheinlich auf einer elektrophilen Interaktion. Wird der Patient aus therapeutischen Gründen gleichzeitig mit Heparin behandelt, findet keine Beeinflussung statt, da der Heparinspiegel selten mehr als 1-2 U/ml Blut beträgt (YOURASSOWSKY et al. 1972). Bei Durchführung eines Hemmstofftests kann die Anwesenheit von Na-, K- und Ca-Salzen im Agar reduzierend wirken (WALTER u. HEILMEYER 1969).

2.2.6 Pharmakokinetik

Nach oraler Applikation findet eine enterale Resorption nur in geringem Maße statt (BURROWS 1971). Nach parenteraler Verabreichung erhält man die Spitzenserumwerte beim Menschen nach 30-60 Minuten. Nach 12-16 Stunden ist auch nach hohen Dosen kaum noch G. im Blut nachweisbar (BLACK et al. 1963).

Über die Frage einer Eiweißbindung von G. im Serum liegen von den verschiedenen Autoren unterschiedliche Angaben vor.

GYSELYNCK et al. (1971) stellten durch Ultrafiltration eine Bindung von 20-30% an menschliches Serumprotein fest, eine Bindung von

25-30% fanden WALTER u. HEILMEYER (1969) und BLACK et al. (1963). Untersuchungen von RIFF u. JACKSON (1971) mit radioaktiv markiertem G. ergaben eine Bindung von 10% an Erythrozyten, 30% an Protein, 60% blieben in Lösung. Der Hämatokrit spielt somit eine wichtige Rolle, eine Veränderung des Wertes um 5 erhöht oder erniedrigt beim Menschen den Plasmaspiegel um $2 \mu\text{g/ml}$.

Durch die Absorption an Erythrozyten ist die Serumkonzentration umgekehrt proportional zum Hämatokrit (WALTER u. HEILMEYER 1969).

Nach BODJADZHIEVA u. DILOV (1977) findet im Schweineserum eine Bindung von 30% an Serumprotein und von 15-16,5% an Globuline statt, diese Komplexe sind reversibel.

Den obigen Arbeiten widersprechen NAUMANN u. AUWÄRTER (1968) u. GORDON et al. (1972), die keine Eiweißbindung feststellen konnten.

Untersuchungen mit Vogelserum über diese Problematik wurden bisher noch nicht vorgenommen.

Die Kumulation ist einer der wichtigsten Faktoren, die bei der Dosierung von G. zu berücksichtigen sind, vor allem, wenn es sich um nierengeschädigte Patienten handelt. Genauso kann es aber bei nierengesunden Patienten bei zu hoher Dosierung oder zu kurzen Dosierungsintervallen zu Kumulationen kommen.

Bei einem Nierenschaden, der sich unter anderem durch erniedrigte renale Clearance und erhöhten Rest-N äußert, kommt es beim Menschen nach klinischen Dosen zu einem Anstieg der Serumkonzentration um das 3fache der Normwerte (CURTIS et al. 1967; JACKSON et al. 1967; KLEIN et al. 1964, zitiert aus WALTER u. HEILMEYER 1969). Umfangreiche Arbeiten liegen von GINGELL u. WATERWORTH (1968) vor, die bei einer Dosis von 80 mg/Patient bei schweren Nierenschäden nach 8 Stunden noch Blutspiegel von über $4 \mu\text{g/ml}$ feststellten, bei gesunden Patienten waren es nach dem gleichen Zeitraum noch $1 \mu\text{g/ml}$. Je niedriger die glomeruläre Filtrationsrate ist, um so höher ist die Halbwertszeit. Daher wird in der Humanmedizin die Empfehlung gegeben, die Dosis auf

den Harnsäuregehalt im Blut und die Creatinin-Clearance einzustellen.

Es liegen bisher keine Angaben über die Werte bei nierengeschädigten Vögeln vor.

2.2.6.1 Halbwertszeit

Die Halbwertszeit läßt sich mit der Gleichung

$$T_{1/2} = \frac{(V) (\ln 2)}{C}$$

darstellen (GYLSELYNCK et al. 1971), wobei V das verabreichte Volumen und C die Clearance ist. Aus den Arbeiten verschiedener Autoren lassen sich folgende Werte entnehmen:

Mensch:	2-3 Std.	(CUSTER et al. 1979)
Schildkröte:	32 Std.	"
Schlangen:	82 Std.	"
<u>Taube:</u>	52 Min.	"
Wachtel:	42 Min.	"
Fasan:	75 Min.	"
Kranich:	165 Min.	(BUSH et al. 1977)
Emu:	182 Min.	"

Daraus ist ersichtlich, daß die Halbwertszeit sich mit der Größe des Vogels verlängert. Dieses wird durch den höheren Stoffwechsel kleiner Vögel erklärt (CUSTER et al. 1979).

Die Halbwertszeit von G. ist im Gewebe länger als im Serum (GERDING et al. 1976, zitiert von BARZA u. LAUERMANN 1978). In der Perilymphe des Innenohrs ist sie ebenfalls verlängert, wahrscheinlich durch elektrochemische Interaktionen zwischen den positiv geladenen Aminoglykosidmolekülen und den negativ geladenen sauren Mukopolysacchariden des Innenohrs (BARZA u. LAUERMANN 1978).

2.2.6.2 Ausscheidung

Ein wichtiges Kriterium zur Beurteilung von Blutspiegeln ist neben der Halbwertszeit Art und Weise und Zeitraum, in der das Medikament aus dem Organismus eliminiert wird.

G. wird nicht metabolisiert, Bei gestörter Nierenfunktion wird es wahrscheinlich auf unbekannte Weise verstoffwechselt oder über einen anderen Weg ausgeschieden (GYSELYNCK et al. 1971).

Beim gesunden Menschen findet man am ersten Tag der Applikation nur 40% der verabreichten Menge, an den folgenden Tagen aber 85% und mehr im Urin (RIFF u. JACKSON 1971). Die Ausscheidung erfolgt in antibiotisch wirksamer Form. Eine tubuläre Rückresorption findet wahrscheinlich mit 20-40% statt (WALTER u. HEILMEYER 1969). Die G.-Clearance ist etwas niedriger als die des Creatinins und unterscheidet sich nicht viel von der des Inulins (GYSELYNCK et al. 1971).

WIESNER et al. (1971) zeigen, daß beim Menschen auch über das Bronchialsekret eine Ausscheidung stattfindet, Bei einer Dosis von 1.1 mg G./kg erschienen im schleimigen Sputum 1,27 µg/ml, im eitrigen 1,73 µg/ml und im blutigen 2,31 µg/ml.

Das Absinken des G.-Spiegels in der Blutbahn erfolgt exponentiell (GINGELL u. WATERWORTH 1968), in den ersten 30-45 Minuten schnell, danach langsamer (BARZA u. LAUERMANN 1978).

G. hat keinen Einfluß auf die Harnproduktion, die Ausscheidung von Elektrolyten, die Creatinin-Clearance oder die glomeruläre Filtrationsrate (BLACK et al. 1963).

2.2.6.3 Konzentration

Verschiedene Untersuchungen über die Konzentrationen von G. in den einzelnen Geweben zeigen, daß Niere und Leber die bevorzugten Organe sind.

Nach einer Dosis von 10 mg G./kg bei Tauben befanden sich nach 6 Stunden im Plasma 0,1 µg/ml, in der Leber 2,5 µg/ml, in der Niere 53,0 µg/ml und in der Beinmuskulatur 0,0 µg/ml (BUSH et al. 1981). Nach 12-18 Stunden gingen die Plasmakonzentrationen gegen Null.

SPREAT u. BICKFORD (1977) fanden bei Küken nach einer intrakardial verabreichten Dosis von 0,2 mg/Tier nach 15 Minuten im Serum noch 16,8 µg/ml, nach 12 Stunden 0,7 µg/ml, nach 24 Stunden 0,2 µg/ml. Die gleiche Dosis subkutan verabreicht ergab im Serum nach einer Stunde einen Spiegel von 5,4 µg/ml, nach 12 Stunden 0,5 µg/ml, nach 24 Stunden 0,2 µg/ml. In der Niere befand sich bei subkutaner Verabreichung eine Spitzenkonzentration nach 24 Stunden von 50,4 µg/g, nach 7 Tagen waren noch 3,3 µg/g vorhanden. In der Leber betrug die höchste Gewebekonzentration nach 24 Stunden 4,5 µg/g, im Muskel nach einer Stunde 4,0 µg/g.

CUSTER et al. (1979) fanden bei ihren Untersuchungen an Wachteln, Kranichen und Fasanen nach einer Dosis von 5 mg G./kg bei Wachteln nach einer Stunde 8,6 µg/ml, nach 2 Stunden 3,1 µg/ml. Fasane zeigten bei gleicher Dosis 12,7 bzw. 8,5 µg/ml, nach 3 Stunden waren es noch 4,9 µg/ml, bei Kranichen lagen die Werte noch höher.

2.2.6.4 Verteilung im Organismus

Nach der Injektion diffundiert G. in den Extrazellularraum. Im intrazellulären Raum findet nur eine geringe Verteilung statt, daher ist der Wirkstoff beim Menschen nur in 15 % des KGW nachweisbar (WALTER u. HEILMEYER 1969). Es findet ein schneller Abtransport über die Lymphe des Ductus thoracicus statt, nach 2 Stunden entspricht der Plasmaspiegel beim Menschen dem der Körpersäfte (CHISHOLM et al. 1968). BARZA u. LAUERMANN (1978) stellten fest, daß die Konzentration der interstitiellen Flüssigkeit der meisten Organe und Gewebe nach einmaliger Dosis von G. 30% der Serumspitzenkonzentrationen beträgt, nach mehrmaliger Applikation nähern sich beide Werte. Es findet kaum eine Diffusion in das ZNS und die Augenkammern statt (BARZA u. SCHEIFE 1977), ebenso verhält es sich mit der Galle (WATERMAN et al. 1976). CLARK fand 1977 beim Hund nach einer Dosis von 4 mg/kg in der Galle 1 µg/ml. Dafür findet man eine hohe Kumulation in der Nierenrinde (BARZA u. SCHEIFE 1977).

2.2.7 Toxizität

Die LD₅₀ beträgt bei Küken 425 mg/kg oder 15 mg/35 g Küken (VERNIMB et al. 1976).

Die Verträglichkeit von G. ist in der Regel nach parentaler und lokaler Anwendung gut, bei intramuskulärer Applikation treten gelegentlich an der Injektionsstelle Schmerzen auf.

Die Verabreichung von G. kann beim Menschen zu neuromuskulären Paralyse führen (JONES et al. 1977).

In Zellkulturen aus menschlichen Amnionzellen, fetalen Fibroblasten, Affennierenzellen und Nierenzellen von Rinderembryonen war die niedrigste Konzentration, die eine toxische Wirkung hatte, 1000 µg G./ml innerhalb von 4 Tagen (FISCHER 1975). Bei bis zu 50 µg/ml wird ein Zellwachstum nicht beeinflusst, 100-200 µg/ml verursachen eine deutliche, 500-2000 µg/ml eine fortgeschrittene Verringerung der Zellzahl.

Bei Vögeln kommt es nach einer Applikation über fünf Tage in einigen Fällen zur Ausscheidung von faul riechendem flüssigem Kot (BUSH et al. 1977).

Unter toxischen Dosen kommt es beim Menschen zu Blutdruckabfall, eingeschränkter Respiration, Nekrosen der Nierentubuli und Hyperämie des Nierenmarks (WALTER u. HEILMEYER 1969).

Entscheidend ist immer vor jeder Applikation der Zustand der Nierenfunktion, bei geschädigten Nieren können auch therapeutische Dosen zu Nebenwirkungen führen.

2.2.7.1 Ototoxizität

Diese für G. charakteristische Form der Toxizität trat bei therapeutischem Einsatz in der Humanmedizin bei 10% der Patienten auf (BARZA u. SCHEIFE 1977), meistens bei einem Plasmaspiegel von über 12 µg G./ml (GYSELYNCK et al. 1971). Das größte Risiko hierfür bietet eine schon vorher geschädigte Niere, außerdem diffun -

diert G., wie bereits erwähnt, schnell in die Perilymphe des Innenohrs (BARZA u. LAUERMANN 1978). Es besteht eine lineare Beziehung zwischen Dosis und Konzentration in der Perilymphe. Beim Tier findet eine reaktive Schädigung der Haarzellen in Labyrinth- und Cochlearisapparat statt (BLACK et al. 1963). Beim Menschen tritt gelegentlich eine Vestibularisstörung mit Tinnitus, Schwindel, Nystagmus und Ataxie auf (WALTER u. HEILMEYER 1969). Diese Erscheinungen können sich noch bis zu zwei Wochen nach Beendigung der Behandlung ausbilden.

2.2.7.2 Nephrotoxizität

Hier handelt es sich um die zweite typische Schädigung des G. BARZA u. SCHEIFE fanden 1977 bei 2 % ihrer Patienten eine schwere Nierenschädigung, bei 5-10 % eine leichtere. Eine Proteinurie mit pathologischem Harnsediment ist selten zu finden. Die Ursache der Schädigungen ist in extrem hohen Serumspitzenkonzentrationen oder zu hohen Talkonzentrationen vor einer erneuten Applikation zu suchen.

2.2.8 Dosierungen

Es ist grundsätzlich zu beachten, daß bei jeder Applikation von G. für eine genügende Flüssigkeitszufuhr zu sorgen ist, um die Nierenfunktion anzuregen.

Beim Tier werden aus praktischen Gründen die jeweiligen Dosierungen auf das kg Körpergewicht bezogen. Beim Menschen empfiehlt sich eine Einstellung der Dosis nach der Halbwertszeit bzw. nach der Creatinin-Clearance, da bei 10 % der Patienten therapeutische Spiegel toxisch sind, bei 30 % wiederum zu niedrig (DAIGNEAULT et al. 1974).

Es liegen aus der Literatur folgende Angaben vor:

Tierart	mg/kg	Injektions - intervall (Std.)	Autoren
Taube	10	6	BUSH et al.1977
Ente	5	8	"
Emu	5	8	"
Fasan	5	8	CUSTER et al.1979
Wachtel	10	6	"
Kranich	5	8	"
Putenküken	2/Tier		SOLIS u.BARNETT 1970
Kleintier	2	1. Tag 12	BERKMAN et al. 1971
		2.-7.Tag 24	"
Mensch	3-4	1. Tag 24	"
	1,5	folg.Tage	"

EBERT (1978) gibt pauschal für Vögel eine Dosis von 17,5 mg/kg bzw. 0,7 mg/40 g an.

2.2.9 Therapeutisch wirksamer Blutspiegel

Der mindest wirksame Spiegel, um eine bakterielle Infektion zu bekämpfen, beträgt für G. bei Mensch und Tier 4 µg/ml (CUSTER et al. 1979), die Talkonzentration vor einer erneuten Applika - tion sollte nicht über 2 µg/ml betragen, um eine Kumulation zu vermeiden. Spiegel unter 2 µg/ml gelten als unwirksam, 5-10 µg/ml sind nötig für schwere Infektionen durch gramnegative Erreger (BARZA u. LAUERMANN 1978). (Abb.3).

Verschiedene Faktoren können zu falschen Meßergebnissen bei der Bestimmung von G.-Blutspiegeln führen. Dazu zählen Fieber, Hypo - tonie, hohe Muskelaktivität und Anämie, eine weitere Rolle spie - len Alter, Körperoberfläche und -gewicht, Geschlecht, Nierenfunk - tion und Extrazellulärvolumen (BARZA u. LAUERMANN 1978). Zu einer Verringerung des Spiegels führt natürlich eine gleichzeitige An - wendung von Diuretika.

Bakterienstämme	Hemmung in % bei verschiedenen Konzentrationen (µg/ml)						
	0,75	1.50	3.12	6.25	12.5	25	25
Salmonella (16)							
Genta.	6	19	81	100			
Spect.					44	100	100
Neo.			25	38	69	81	100
Oxy.		6	81	81	88	88	100
Escherichia coli (6)							
Genta.		17	67	67	67	100	
Spect.					33	67	100
Neo.				17	50	67	100
Oxy.						33	100
Enterobacter aerogenes (3)							
Genta.			100				
Spect.						67	100
Neo.				33	67	100	
Oxy.		33	100				
Proteus mirabilis (3)							
Genta.				33	33	100	
Spect.						33	100
Neo.						33	100
Oxy.				67	67	100	
Pseudomonas aeruginos (3)							
Genta.		67	100				
Spect.				67	67	100	
Neo.							
Oxy.		100					

Abb. 3 Mindesthemmende Konzentrationen von verschiedenen Antibiotika (entnommen aus VERNIME et al. 1976).

2.2.10 Anwendung in der Humanmedizin

SOLIS u. BARNETT (1970) geben folgende Indikationen an:

1. schwere Verbrennungen
2. Pneumonien durch gramnegative Erreger
3. Sepsis
4. manche Fälle von Endocarditis
5. chronische Pyelonephritis

Die verschiedenen Hersteller empfehlen es weiterhin bei Infektionen des Urogenitaltraktes, z.B. chronischen Harnwegsinfektionen, Penicillin-refraktären Gonokokken-Infektionen, Gewebeinfektionen durch gramnegative Keime, Meningitiden und Schleimhautinfektionen.

2.2.11 Anwendung in der Veterinärmedizin

In der Kleintierpraxis wird G. bei Infektionen des Harn- und Atmungsapparates und bei der Otitis externa des Hundes empfohlen (BERKMAN et al. 1971), ferner bei Entzündungen der Gebärmutter (Logenta^R/IFFA MERIEUX), Entzündungen der Haut, Wunden, Verletzungen, Magen-Darm-Infektionen und Mandelentzündungen (Gentakél 02^R / VETRI PHARM).

In der Großtierpraxis kommt es z.B. beim Mastitis-Metritis-Agalaktie-Komplex des Schweins, bei der Gebärmutterentzündung des Rindes oder der Colibazilliose und Enzootischen Pneumonie der Ferkel zur Anwendung.

Als einziges für den Vogel empfohlenes Präparat liegt das Gentakél 02^R / VETRI PHARM vor. Bei einer Dosis von 4 mg/kg soll es beim Huhn bei Staphylokokkose (Pydermie), Streptokokkose, Coli-Infektionen und Gasödemerkrankung angewendet werden, aber nicht bei Tieren, deren Körpergewicht unter einem kg liegt.

Für die anderen Präparate, die bei den folgenden Versuchen zur Anwendung kamen, liegen vom Hersteller für den Vogel keine Dosierungsanweisungen vor.

VERNIMB et al. (1976) beschreiben G. als erfolgreich zur Bekämpfung der Frühsterblichkeit bei Küken. OLESIUK et al. (1972) nennen es als Prophylaxe gegen *Salmonella typhimurium* bei Küken - entgegen anderen Angaben in der Literatur - bei Trinkwasser-Verabreichung in unterschiedlichen Dosierungen.

Den häufigsten Einsatz fand es wohl bisher in der Vogelpraxis beim sogenannten "egg-dipping", das mittels Druck- oder Temperaturunterschiedsmethode bzw. Injektion ins Ei zur Prophylaxe gegen verschiedene bakterielle Infektionen der Bruteier des Wirtsschaftsgeflügels eingesetzt wird. Durchführung und Dosierungen haben unter anderem NIVAS et al. (1972 und 1975), SAIF et al. (1971 und 1973) und SNOEYENBOS u. CARLSON (1973) in umfangreichen Arbeiten beschrieben. SAIF et al. (1971) nennen hier die erfolgreiche Anwendung des Gentamycins in Dosierungen von 2000, 1000, 500 und 250 ppm in der Tauchflüssigkeit gegen natürliche und künstliche Infektionen mit *Arizona* und auch *Mycoplasma meleagridis*, wobei Schlupf- und Wachstumsrate nicht durch das G. beeinflusst werden.

SNOEYENBOS u. CARLSON (1973) injizierten 4 mg G./Ei und infizierten diese 6 Stunden später mit *Salmonellen*. Die Dosis erwies sich als toxisch für die Embryonen und es wurden auch nicht alle Erreger zerstört. Wahrscheinlich werden durch das Dipping nur die Eier geschützt, die durch die Schale hindurch infiziert werden, der Schutz tritt 24-48 Stunden nach dem Dipping ein. Dabei bildet nach NIVAS et al. (1972) die Kutikula die größte Barriere für die Antibiotikallösung.

2.2.12 Nachweisverfahren

Bei den unterschiedlichen Nachweisverfahren kann man folgende Einteilung vornehmen:

1. Mikrobiologische:

Sie sind billig aber langsam, und es ist in der Regel nicht möglich, einen solchen Test durchzuführen, wenn in der Probe außer G. noch andere Hemmstoffe vorhanden sind.

Die Untersuchungen sind durchzuführen nach den Blättern der Deutschen Norm (1979) oder nach Modifizierungen verschiedener Autoren (z.B. Plattenschnelltest nach WINTERS et al. 1971; Blättchentest nach TRAUB et al. 1982; SABATH et al. 1971; WARREN et al. 1972). Wegen der vielen Fehlerquellen empfehlen BARZA u. LAUERMANN (1978), bei diesen Testverfahren unerwartete Ergebnisse mit Vorsicht zu deuten.

2. Radioimmunassays

Diese Verfahren sind spezifisch und sehr empfindlich, benötigen aber spezielle Antikörper gegen G., die unter Umständen schwer herzustellen oder erhältlich sind.

Beschrieben wurden diese Tests unter anderem von WATERMAN et al. 1977 oder MAHON et al. 1973.

3. Enzymatische Assays

Sie sind schnell durchzuführen und werden durch andere Antibiotika nicht beeinflusst. Es werden hier Resistenzen gegen G. in Gegenwart von adenylierenden Enzymen ausgenutzt (HOLMES u. SANFORD 1974; DAIGNEAULT et al. 1974).

4. Urease-Methode

5. Hochdruckflüssigchromatographie

6. Fluoro-Immuno-Assays

2.3. Salmonellose

Bei einer der folgenden Versuchreihen wurde der Verlauf von Blut- und Gewebespiegeln bei mit Salmonellen infizierten Tieren beobachtet.

Klinisch verursacht die akute Salmonellose Enteritis mit wäßrig-schleimigem, grünlich verfärbtem Kot, serofibrinöse Kon-

junktivitis und zentralnervöse Störungen (SIEGMANN 1976). MATTHES und LÖLIGER (1976) fanden bei oral mit *Salmonella typhimurium* infizierten Küken erste erkennbare histologische Veränderungen in der Leber nach 96 Stunden als Nekrobiosen oder miliare Nekrosen bzw. stärkere myeloische oder lympho-retikuläre Infiltrationen. In der Initialphase erfolgt innerhalb kurzer Zeit die Ausbreitung der Bakterien im Verdauungstrakt und ihr Übertritt in die Blutbahn mit nachfolgender Ausschwemmung in die parenchymatösen Organe.

Nach i.v. Injektion einer *Salmonellensuspension* in die V. tibialis ist aufgrund der anatomischen Gegebenheiten eine primäre Absiedlung der *Salmonellen* in der Niere zu erwarten. Dementsprechend sollte im Krankheitsbild eine Nierenschädigung im Vordergrund stehen.

3. Material und Methode

3.1 Material

3.1.1 Versuchstiere

Bei den Versuchsreihen wurde mit insgesamt 96 Tauben (*Columba livia* Gmel., 1789 var. *domestica*) gearbeitet, darunter befanden sich hauptsächlich Brieftauben (45) und "Stadttauben" (34), weiter 8 Flügeltauben, 6 Gimpel, 1 Syrischer Kröpfer, 1 Alt-deutscher Mohrenkopf und 1 Kröpfer.

Bei Tauben, die mehrmals verwendet wurden, bestand zwischen den einzelnen Untersuchungen ein Mindestabstand von 21 Tagen. Die Tiere waren klinisch gesund und in der bakteriologischen und parasitologischen Kotuntersuchung frei von *Salmonellen* und Darmparasiten. Sie lagen insgesamt im Körpergewicht zwischen 276 und 578 g, es waren alle Altersklassen vertreten.

3.1.1.1 Unterbringung der Versuchstiere und Fütterung

Die Unterbringung erfolgte je nach Versuch frei im Schlag, einzeln oder für kurze Zeit in Gruppen von 3 Tieren in Käfigen mit 50 x 50 cm Grundfläche auf Sägemehleinstreu oder in Gruppen zu

9 oder 12 Tieren in Käfigen mit 1 x 1 m Grundfläche auf Drahtboden. Die Tiere des Infektionsversuches wurden zu je 3 Tieren in einem Ausstellungskäfig mit Grundmaßen 50 x 50 cm gehalten. Die Fütterung erfolgte mit Natura Standard (Gebr. De Schree - maecker, Antwerpen) ad lib., die Tränke aus Näpfen ad lib.. Als Beleuchtung diente natürliches Tageslicht.

Außer bei den Tieren, die mit Salmonellen infiziert wurden, gab es keine Ausfälle, die Tauben waren klinisch gesund und zum Teil in Produktion.

3.1.2 Serum

Es wurde pro Untersuchungstermin ca. 1,5 ml Blut entnommen. Daraus ließ sich durch Zentrifugieren eine Menge von ca. 0,5 - 0,7 ml Serum gewinnen. Der Blutkuchen wurde verworfen.

3.1.3 Sporensuspension

Für den Agardiffusionstest wurde eine Bacillus subtilis (BGA) - Sporensuspension/Merck verwendet (Art.Nr. 10 649), eingestellt auf eine Sporendichte von 10 Mill./ml.

3.1.4 Salmonellen

Es wurden zur Infektion der Tauben im Antibiotogramm G.-empfindliche Keime von Salmonella typhimurium var. copenhagen verwendet, Tagebuchnummer der Institutssammlung/Oberschleißheim 4097/82.

3.1.5 Organe

Für die Untersuchung der Gewebespiegel wurden Leber, Niere, Gehirn und ein Teil der Brustmuskulatur entnommen, bei den mit Salmonellen infizierten Tieren nur Leber und Niere.

3.1.6 Firmenpräparate Gentamycin

Es kamen folgende Präparate zur Anwendung:

1. Refobacin^R 10mg/MERCK
Ampullen zu 2 ml mit 16,6 mg G.-Sulfat, entsprechend 10 mg G.
2. Frieso^R - Gent/WELLCOME
1 ml enthält 66,7 mg G.-Sulfat (entsprechend 40 mg G.),
1,8 mg p-Hydroxybenzoesäuremethylester,
0,2 mg p-Hydroxybenzoesäurepropylester,
3,0 mg Natriumdisulfit.
3. Logenta^R / IFFA MERIEUX:
1 ml enthält 85,0 mg G.-Sulfat (entspricht 50 mg G.),
1,8 mg p-Hydroxybenzoesäuremethylester,
0,2 mg p-Hydroxybenzoesäurepropylester,
3,2 mg Natriumdisulfit.
4. Gentakél 02^R / VETRI PHARM
1 ml enthält 32,42 G.-Sulfat (entspricht 20 mg G.),
3,50 mg Natriumdisulfit,
0,45 mg Methyl-4-hydroxybenzoat,
0,05 mg Propyl-4-hydroxybenzoat.
5. Gentovet^R / TAD Pharmazeutisches Werk GMBH
1 ml enthält 85,0 mg G.-Sulfat,
1,8 mg p-Hydroxybenzoesäuremethylester,
0,2 mg p-Hydroxybenzoesäurepropylester
3,2 mg Natriumdisulfit.
6. Sulmycin^R Ampullen/BYK-Essex München
1 Ampulle zu 40 mg (1 ml) enthält 66,7 mg G.-Sulfat.
7. Sanicalv^R 10 mg/VMG
1 ml enthält 17 mg G.-Sulfat (entspricht 10 mg G.).

Die Wartezeit der für das Tier empfohlenen Präparate beträgt für das eßbare Gewebe von Pferd, Rind und Schwein 45 Tage für Injektionsstelle und Nieren und 7 Tage für den Rest. Für die Milch beträgt sie 3 Tage, für Geflügel 25 Tage.

3.1.7 Agar

Für den Hemmstofftest wurde Antibiotika-Agar Nr. 5/Merck (entsprechend GROVE and RANDALL Medium Nr. 5) verwendet, der in destilliertem Wasser gelöst wurde; pH-Einstellung mit 0,1 n-NaOH. Die Salmonellen wurden auf Brillantgrün-Agar bebrütet (Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Agar, Oxoid Code-Nr.: CM 329). Der Agar wurde in Platten mit einem Durchmesser von 8,5 cm ausgegossen.

3.1.8 Standard für Hemmstofftest

Der Standard wurde aus Verdünnungen von Refobacin^R mit sterilem destilliertem Wasser hergestellt.

3.1.9 TD_x - System/Abbott

Die meisten Untersuchungen von Blut- und Gewebeproben wurden mittels des TD_x-Systems durchgeführt. Es handelt sich hierbei um ein vollautomatisches Meßsystem zur Konzentrationsbestimmung von Medikamenten. Das System umfaßt einen automatischen Analyser, verschiedene Assay-Kits sowie Standard- und Kontrollproben für verschiedene Medikamente. Es können hauptsächlich Konzentrationen von Antikonvulsiva, Antibiotika, Antihistaminika und Herz-Kreislauf-Medikamenten bestimmt werden.

Eine TD_x-Reagenzpackung mit je 3,0 ml enthält:

P = Vorbehandlungslösung. Gepuffertes Surfactant mit Protein-stabilisator (3 ml). Konservierungsmittel 0,1 % Natriumazid.

S = Gepuffertes Antiserum (Schaf) mit Proteinstabilisator (3 ml). Konservierungsmittel 0,1 % Natriumazid.

T = Gepuffertes Fluorescein-Tracer mit Surfactant und Protein - stabilisator (3 ml). Konservierungsmittel 0,1 % Natriumazid.

Die TD_x-Kalibrierungsstandards enthalten sechs Fläschchen mit genau abgemessenen Mengen des USP-Medikaments in normalem Human - serum mit sechs verschiedenen Konzentrationen (0,5,0; 10,0; 20,0; 40,0; 80,0 µg/ml). Konservierungsmittel 0,1 % Natriumazid.

Die TD_x-Kontrollproben enthalten drei Fläschchen mit genau abge - messenen Mengen des USP-Medikaments in normalem Humanserum mit drei verschiedenen Konzentrationen (15,0; 30,0; 50,0 µg/ml). Kon - servierungsmittel 0,1 % Natriumazid.

Der TD_x-Verdünnungspuffer besteht aus 950 ml Phosphatpuffer, 0,1 M, mit Proteinstabilisator. Konservierungsmittel 0,1 % Natrium - azid.

Zur Ausstattung des Geräts gehören ferner Karussell mit Proben - einsätzen, Küvetten und Zentrifugenröhrchen (ANONYM, Gebrauchsan - weisung für das TD_x- Gerät 1982).

3.1.10 Photometer

Zur Einstellung der Keimdichte der Salmonellen wurde ein SP 6-550 UV/VIS Spectrophotometer (Pye unicam) der Fa. Phillips verwendet.

3.1.11 Homogenisator

Zur Zerkleinerung der Gewebeproben wurde ein Ultra-Turrax/ 20 000 U/Min. verwendet.

3.2 Methode

3.2.1 Berechnung der Dosis

Die Tiere wurden einen Tag vor Applikation des G. auf einer Haus -

haltswaage mit Digitalanzeige (Soehnle) mit einer Genauigkeit bis zu ± 1 g gewogen, die jeweils gewünschte Dosis nach g/KGW ausgerechnet und dann auf die Konzentration des jeweiligen Präparates in ml bezogen.

3.2.2 Injektion und Blutentnahme

Die Applikation des G. erfolgte intramuskulär in den Musculus pectoralis superficialis. Die Blutentnahme erfolgte mit Einwegspritze aus der V. cutanea ulnaris. Das Blut wurde in sterile Röhrchen (2 ml) umgefüllt.

3.2.3 Serumgewinnung und -lagerung

Die Blutproben wurden für eine Stunde im Brutschrank bei 37°C inkubiert, danach wurde der Blutkuchen mit einem Glasstäbchen vorsichtig von der Wand abgehoben. Die Proben kamen über Nacht in den Kühlschrank, nach erneutem Abheben des Blutkuchens wurden sie 20 Minuten bei 3500 U/Min. zentrifugiert. Das Serum wurde abpipettiert und bis zur Untersuchung eingefroren.

3.2.4 Agardiffusionstest

Es wurden 6,4 g Agar in 250 ml Aqua dest. bzw. 12,75 g in 500 ml Aqua dest. unter vorsichtigem Schütteln suspensiert und anschließend im Dampftopf gelöst. Danach wurde mittels der 0,1 M NaOH der pH-Wert auf 8,0 eingestellt und 15 Minuten autoklaviert. Nach Abkühlen auf 30° wurde 1 ml der Sporensuspension dazugegeben und vorsichtig vermischt. Anschließend wurden mit einer Zippette die Platten steril ausgegossen, zunächst 14 ml und nach dem Erstarren im Kühlschrank noch einmal 4 ml als Overlay. Durch Diffusion des Untersuchungsmaterials in die Trennschicht zwischen Grundagar und Overlay kommt es zu einer besseren Abgrenzung der Hemmhöfe.

Die Platten waren nach dem Erstarren sofort verwendbar oder konnten versiegelt bis zu 4 Wochen im Kühlschrank gelagert werden.

Zur Durchführung des Tests wurden je Platte 2 Löcher im Durchmesser von 4 mm im Abstand von ca. 3 cm ausgestanzt und mit einer Pasteur-Pipette mit der Probe bis zur Wölbung des Tropfens beschickt. Jede Probe wurde im Doppelansatz untersucht, also erhielt man 4 Ergebnisse, deren Durchschnittswert errechnet wurde. Die beimpften Platten kamen für 18 Stunden in den Brutschrank bei 37°C.

Die Ausmessung der Hemmhöfe erfolgte mit der Schublehre in mm, die Auswertung im Vergleich zum Standard.

3.2.5 Herstellung des Standards

Hierzu wurde nach folgendem Schema eine Verdünnungsreihe mit Refobacin^R unter Pipettenwechsel zwischen den einzelnen Verdünnungsstufen hergestellt (Abb. 4).

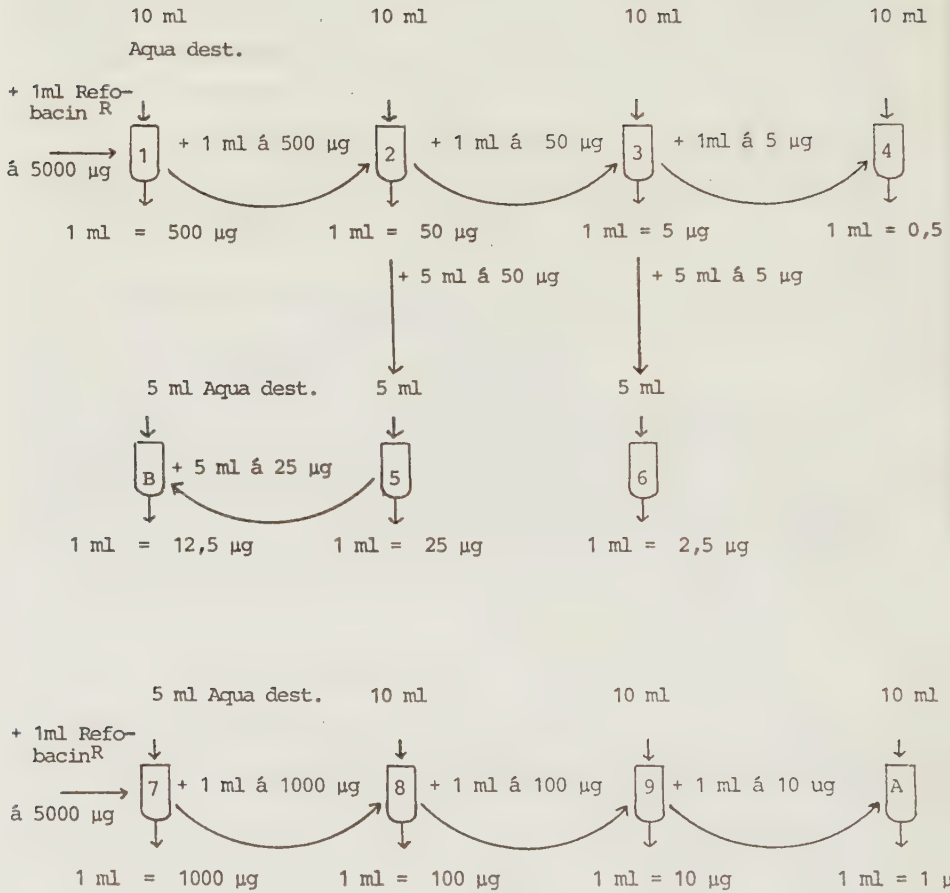


Abb. 4 Herstellung der Standardverdünnungen von Refobacin^R
10 µg/2 ml sterilem Aqua dest.

Die Werte wurden auf semilogarithmischem Papier gegeneinander aufgetragen (Abb. 5 u. 6).

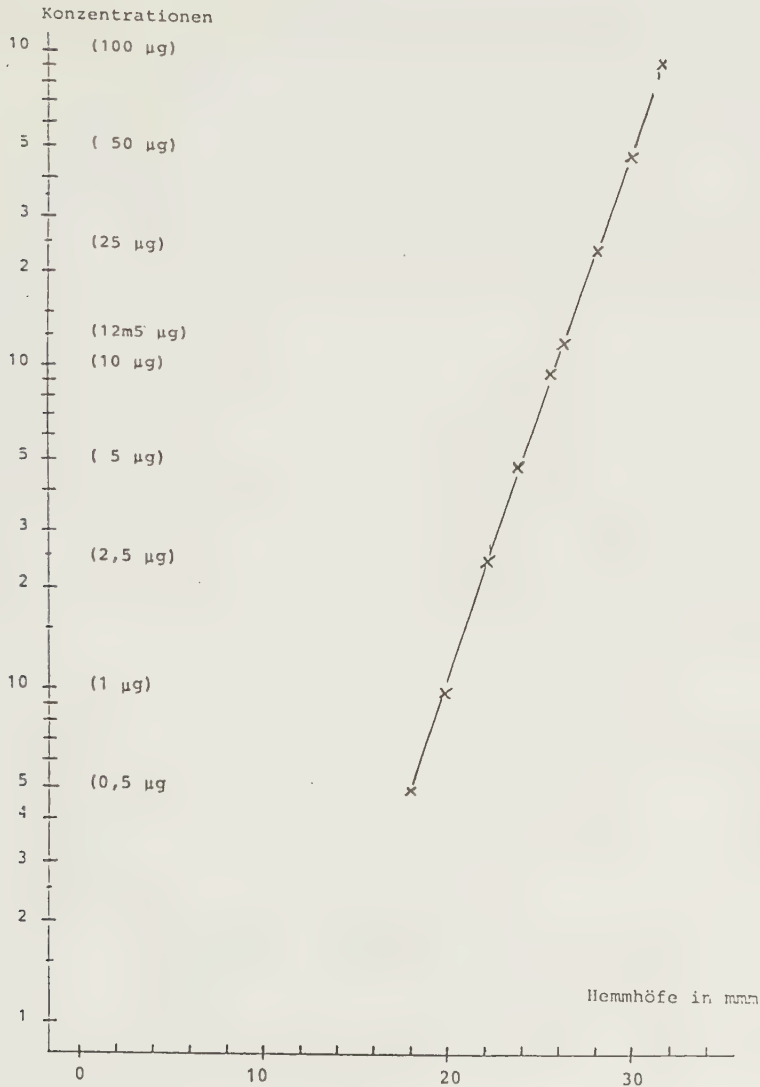


Abb. 5 G.-Standard für Hemmstofftest

$\mu\text{g/ml}$	0,5	1,0	2,5	5,0	10,0	12,5	25,0	50,0	100,0
HH in mm	18,0	19,9	22,1	23,8	25,6	26,2	28,1	30,0	31,7

Abb.6 G.-Standard für Hemmstofftest

3.2.6 Entnahme der Gewebeproben

Die Tiere wurden nach mechanischer Betäubung durch Blutentzug getötet und seziiert. Es wurden Leber, Niere, Brustmuskulatur (gegenüber der Injektionsstelle) und Gehirn entnommen. Jeweils 0,5 g wurden für die Gewebsspiegeluntersuchung abgewogen. Eine kleine Gewebeprobe aus Leber und Niere von den mit Salmonellen infizierten Tieren wurde in Bouin-Lösung für die histologische Untersuchung fixiert.

Die Proben für den Gewebsspiegel wurden mit 1,5 ml TD_x -Puffer versetzt, die Muskelprobe mit 2 ml. Anschließend wurden sie im Ultra-Turrax zerkleinert, danach 15 Minuten bei 3.000 U/Min. zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und bis zur Untersuchung eingefroren.

3.2.7 Einstellen der Salmonellen-Keimdichte

Die Salmonellen wurden mit physiologischer NaCl-Lösung von den Kulturplatten abgeschwemmt, dreimal gewaschen und zentrifugiert. Dann wurden sie mit Hilfe der Bariumsulfat-Trübungsreihe nach McFARLAND photometrisch bei 580 nm auf eine Dichte von 10^9 Keime/ml eingestellt (HALLMANN u. BURKHARDT 1974) (Abb. 7).

Röhrchen Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
BaCl ₂ (1%ig) (ml)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0
H ₂ SO ₄ (1%ig) (ml)	9,9	9,8	9,7	9,6	9,5	9,4	9,3	9,2	9,1	9,0
Ungefähre Bakterien- zahl/ml ¹ ($\times 10^9$)	300	600	900	1200	1500	1800	2100	2400	2700	3000

¹ Bezogen auf Colibakterien.

Abb. 7 Herstellung der Bariumsulfat-Trübungsreihe nach McFARLAND (entnommen aus HALLMANN u. BURKHARDT (1974)).

3.2.8 Infektion mit Salmonellen

In diesem Versuch wurde einer Gruppe von 9 Tauben 1 ml der Salmonellen-Suspension intravenös in die V. tibialis posterior appliziert, einer 2. Gruppe die gleiche Menge intramuskulär in den M. gastrocnemius.

3.2.9 Einfrieren

Das Einfrieren von Serum- und Gewebeproben und Injektionslösungen erfolgte in der Gefriertruhe bei - 18°C.

3.2.10 Histologie

Die Fixierung der Organproben erfolgte für mindestens 24 Stunden. Jede Organprobe wurde in Paraffin eingebettet und geschnitten. Die Schnittdicke betrug zwischen 4 µm und 8 µm. Gefärbt wurden alle Gewebe mit Haematoxinilin-Eosin und nach van GIESON.

3.2.11 Funktionsprinzip des TD_x-Systems

" Das TD_x-System basiert auf der Fluoreszenzpolarisations-Immunoassay-Technik. Diese Methode vereint die Prinzipien der kompetitiven Proteinbindung mit der Fluoreszenzpolarisation und erlaubt eine direkte Messung der Tracer-Bindung ohne Trennverfahren. Damit wird die Spezifität eines Immunoassays mit der Schnelligkeit und leichten Handhabung eines homogenen Verfahrens für die Konzentrationsbestimmung von Medikamenten in Serum oder Plasma verbunden.

Alle auf der kompetitiven Bindung basierenden Immunoassays für die Bestimmung von Medikamenten stützen sich darauf, daß im Untersuchungsmaterial des Patienten das Medikament und ein als Tracer bezeichnetes, markiertes Medikament um eine begrenzte Anzahl von Bindungsstellen auf Antikörpern, die für das zu messende Medikament spezifisch sind, konkurrieren. Die Menge des

an den Antikörper gebundenen Tracers ist der Konzentration des nichtmarkierten Medikaments proportional. Wenn der Tracer an den Antikörper gebunden wird, verursacht eine spezifische Eigenschaft der für den Tracer verwendeten Markierung eine Änderung, die quantitativ erfaßt werden kann. Der für den Tracer verwendete Markierungstyp weist eine Kerngröße auf, welche die Immunoassays für die verschiedenen Medikamente kennzeichnet und unterscheidet.

Beim TD_x -System wird nun die Tracer-Antikörper-Bindung direkt mit Hilfe bestimmter Eigenschaften des fluoreszierenden Markierungsstoffes Fluorescein gemessen. Wenn der Tracer an den Antikörper gebunden wird, kommt es zu einer Polarisationsänderung des vom Farbstoff ausgesandten Fluoreszenzlichtes, das über ein hochentwickeltes optisches Meßsystem erfaßt wird. Die Konzentration des Medikaments im Untersuchungsmaterial des Patienten läßt sich aus einer Standardkurve extrapolieren, bei der die Polarisationswerte als Funktion der Konzentration aufgetragen sind. Wird der Fluorescein-markierte Tracer durch linear polarisiertes Licht angeregt, strahlt er eine Fluoreszenz aus, deren Polarisationsgrad umgekehrt proportional zur Drehgeschwindigkeit ist. Der nichtgebundene Tracer verteilt sich in dem Zeitraum zwischen der Absorption des angeregten Lichtes und der Fluoreszenzemission im wesentlichen zufällig. Die Polarisation der Fluoreszenz ist daher gering und geht gegen Null. Nach Bindung an den spezifischen Antikörper nimmt die Drehung des Tracers die des Antikörper-Moleküls an, die geringer als die des relativ kleinen Tracer-Moleküls ist. Die Polarisation des ausgestrahlten Lichtes wird größer, nachdem der Tracer gebunden ist. Das in der Probe vorliegende nichtmarkierte Medikament konkurriert mit dem Tracer um die beschränkte Anzahl der Antikörper-Bindungsstellen, und die beobachtete Fluoreszenzpolarisation des Tracers liegt dann zwischen dem Wert des freien und des gebundenen Tracers. Falls das Untersuchungsmaterial eine hohe Konzentration des Medikaments aufweist, entspricht die beobachtete Polarisation mehr dem Wert des freien Medikaments, das heißt, sie ist gering. Falls die Probe eine niedrige Konzentration des Medikamentes aufweist, ent-

spricht die Polarisation mehr dem Wert des gebundenenen Medikaments, d.h. sie ist hoch.

Wird die Reaktionsmischung eines Immunoassays erst mit senkrecht und dann mit waagrecht polarisiertem Licht erregt und nur die senkrechte Komponente des ausgestrahlten Lichtes untersucht, kann die Fluoreszenzpolarisation der Reaktionsmischung sehr genau bestimmt werden. Die Polarisation ergibt sich aus der folgenden Gleichung:

$$P = \frac{I_{vv} - I_{hv}}{I_{vv} + I_{hv}}$$

I_{vv} = Signal, wenn senkrecht polarisiertes Licht die Probe anregt und die Stärke der senkrechten Komponente analysiert wird.

I_{hv} = Signal, wenn waagrecht polarisiertes Licht die Probe anregt und die Stärke der senkrechten Komponente analysiert wird.

Die genaue Beziehung zwischen Polarisation und Konzentration des nicht markierten Medikaments wird dadurch bestimmt, daß die Polarisationswerte von Kalibrierungsstandards gemessen werden, die bekannte Konzentrationen des Medikaments enthalten. Über eine nichtlineare Kurvenanpassung mit kleinstem Fehlerquadrat werden dann die Konzentrationen des unbekannten Untersuchungsmaterials des Patienten extrapoliert" (zitiert aus der Bedienungsanleitung des TD_x-Systems 1982).

Zur Beschickung des Gerätes benötigt man 70 µl Untersuchungsmaterial. Das Karussell faßt 20 Proben und benötigt je Probe eine Minute Meßzeit mit einer Genauigkeit der Ergebnisse bis zwei Stellen hinter dem Komma. Die niedrigste noch zuverlässig nachweisbare Konzentration liegt bei 0,16 µg/ml, niedrigere Konzentrationen werden als LOW ausgedruckt. Gelegentlich werden Werte darunter noch erfaßt, diese sind aber ungenau.

Mit dem TD_x-System hat man das bisher schnellste und genaueste Testverfahren von Blut- und Gewebeproben auf G.-Spiegel.

4. Versuchsplanung

4.1 Versuch I

Dieser Versuch sollte dazu dienen, für die Taube die Dosis herauszufinden, die einen Blutspiegel von mindestens 4 µg/ml erbringt und keine toxischen Wirkungen zeigt.

25 Tiere wurden in 5 Gruppen zu je 5 Tieren eingeteilt. Die Tiere jeder Gruppe besaßen in etwa das gleiche Gewicht.

Allen Tieren wurde zur gleichen Zeit (ca. 8.30 h) 10 mg G./kgKGW i.m. injiziert. Bei den einzelnen Gruppen wurde nacheinander stündlich Blut entnommen, ab der sechsten Stunde wurde wieder bei Gruppe 1 begonnen.

Die Untersuchung des Serums erfolgte nach dem TD_x-System.

Eine andere gleichgroße Gruppe erhielt eine Dosis von 5 mg G./kgKGW i.m.. Blutentnahme und Untersuchung erfolgten in gleicher Weise.

In einem Vorversuch wurde einer Gruppe von 9 Tieren eine Dosis von 12 mg G./kgKGW i.m. appliziert. Die Blutentnahme erfolgte stündlich über 10 Stunden hinweg.

4.2 Versuch II

Hier sollten die optimalen Nachdosierungsintervalle gefunden werden, die einen anhaltend mindestwirksamen Blutspiegel von 4 µg/ml gewähren.

Einer Gruppe von 15 Tieren wurde die Dosis von 5 mg G./kgKGW i.m. alle 4 Stunden appliziert, die Blutentnahme erfolgte bei jeweils 3 Tieren stündlich nach 1 - 10 Stunden p. appl.

Eine andere gleichgroße Gruppe erhielt 10 mg G./kgKGW i.m. alle 6 Stunden appliziert, die Blutentnahme erfolgte nach 1, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 12, 23, 24 Stunden bei je 3 Tieren.

Die Applikation des G. wurde in der Nacht nicht durchgeführt, um praxisnahe Ergebnisse zu erzielen.

4.3 Versuch III

In dieser Versuchsreihe fand ein Vergleich von fünf verschiedenen Firmenpräparaten statt, um festzustellen, ob große Abweichungen unter ihnen gegeben sind.

Es wurde jeweils einer Gruppe von 9 Tieren 5 mg G./kgKGW i.m. eines der genannten G.-Präparate appliziert, die Blutentnahme erfolgte stündlich nach 1-5 Stunden bei je 3 Tieren. Jedem Tier der Gruppe wurde zweimal Blut entzogen.

Gentovet^R und Sulmycin^R wurden wegen ihrer hohen Konzentration jeweils mit Aqua dest. pro injectionem im Verhältnis 1:1 verdünnt.

4.4 Versuch IV

Dieser Versuch sollte zeigen, wie bei der gesunden Taube die Verteilung einer einmaligen Dosis G. in den verschiedenen Geweben stattfindet.

Einer Gruppe von 18 Tieren wurden 5 mg G./kgKGW i.m. appliziert. Dann wurden jeweils 3 Tiere, die durch Los ausgewählt waren, nach 1, 3, 5, 24, 48 und 72 Stunden durch Blutentzug getötet. Was von den einzelnen Organen nicht für die Gewebsspiegel- oder histologische Untersuchung gebraucht wurde, wurde eingefroren. Für die histologische Beurteilung wurden von 3 Tieren, die nach 72 Stunden getötet wurden, von Leber und Niere Paraffinschnitte angefertigt um festzustellen, ob durch die Applikation des G. Veränderungen in den Geweben stattfinden.

4.5 Versuch V

Für diesen Versuch wurden 18 Tiere mit Salmonellen infiziert um zu beobachten, wie im Falle einer Infektion, die auch eine Nierenschädigung bedingt, der G.-Spiegel verläuft.

Der Versuchsplan gleicht dem von 4.4. Die Infektion mit Salmonellen erfolgte eine Woche vor Applikation des G.. Die überlebenden Tiere wurden zu je 3 Stück nach 1, 5 und 72 Stunden getötet.

5. Ergebnisse

5.1 Versuch I

Einzeldosierungen von 5 und 10 mg Refobacin^R /kgKGW bei 25 Tauen zeigten, daß auch bei der höheren Dosierung ein wirksamer Spiegel von mindestens 4 µg G./ml Serum nur für 3 Stunden erhalten bleibt. Nach 4 Stunden ist für die Dosis von 5 mg G./kgKGW der günstigste Zeitpunkt für eine Nachdosierung, da sich die Talkonzentration bei ca. 2 µg/ml befindet. (Abb. 8 und 9).

Bei einer Dosierung von 10mgG./kg KGW' wird nach 4 Stunden die Talkonzentration von ca. 2 µg/ml Serum erreicht. Zu diesem Zeitpunkt kann nachdosiert werden.

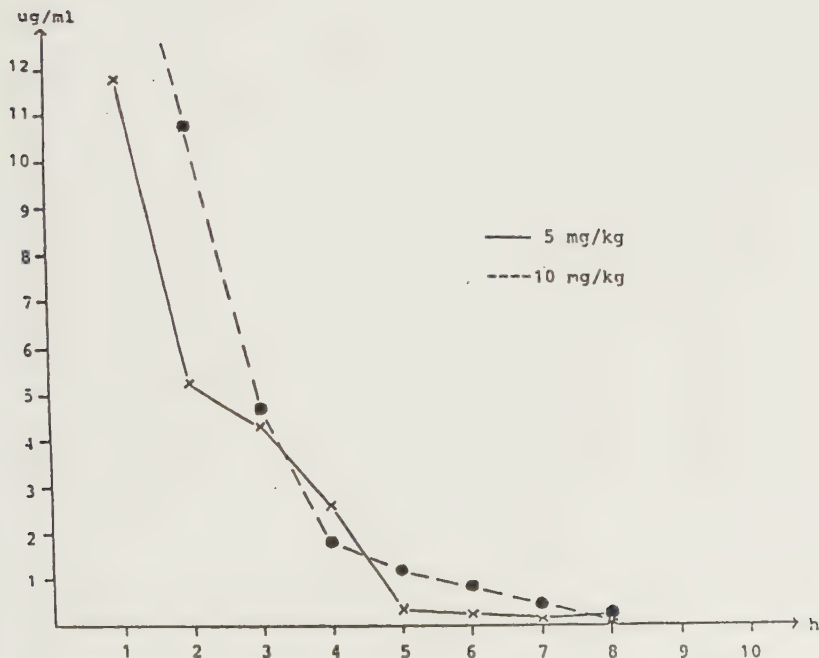


Abb. 8 Einzeldosierungen von 5 und 10 mg G./kgKGW;
 $\bar{x}$ aus $n = 5$

h	5 mg/kg	s	10 mg/kg	s
1	11,87 ug/ml	1,76	40,07 ug/ml	3,81
2	5,29	0,93	10,81	5,02
3	4,36	0,97	4,75	0,68
4	2,60	0,45	1,86	0,07
5	0,36	0,03	1,19	0,49
6	0,29	0,10	0,87	0,45
7	0,16	0,04	0,45	0,19
8	0,24	0,01	0,15	0,09

Abb. 9 Standardabweichung (s) bei einer Dosis von 5 und 10 mgG./kgKGW (TD_x).

$\bar{x}$ aus $n = 5$

Ein Vorversuch mit einer einmaligen Dosis von 12 mg G./kgKGW bei 9 Tieren zeigte, daß hier nach 3 Stunden noch ein Spiegel von 4,16 µg/ml vorhanden ist, in der 4. Stunde sinkt er jedoch auf 0,71 µg/ml (Abb. 10 und 11).

h	1	2	3	4	5	6	7	8	9
µgG./ml	21,53	20,05	4,16	0,71	-	0,30	0,48	0,11	-

Abb. 10 Vorversuch über eine G.-Konzentration im Serum nach einer Dosis von 12 mgG./kgKGW; n = 1

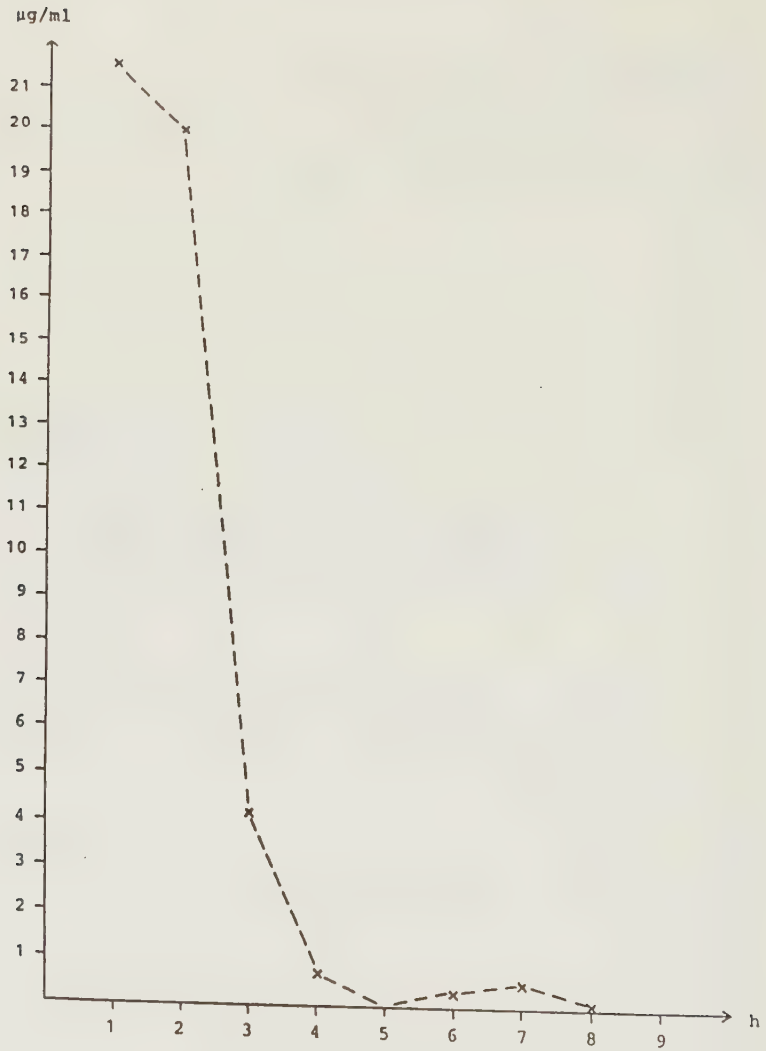


Abb. 11 Vorversuch über eine G.-Konzentration in Serum nach einer Dosis von 12 mgG./kgKGW; n = 1

5.2

Versuch II

Bei der Erprobung eines Nachdosierungsintervalls mit einer Dosis von 5 mg G./kg/4 Std. zeigte sich, daß im Verlauf der aufeinanderfolgenden Applikationen die Serumspitzenkonzentrationen von jeweils der ersten Stunde p.appl. langsam anstiegen. Bei einem Dosierungsintervall von 4 Stunden lag die Talkonzentration vor jeder Nachdosierung nur gering über 2 µg G./ml Serum. Zu erwarten ist jedoch, daß der Spiegel in der Nacht, in der keine Applikation erfolgt, absinkt (Abb. 12 und 13).

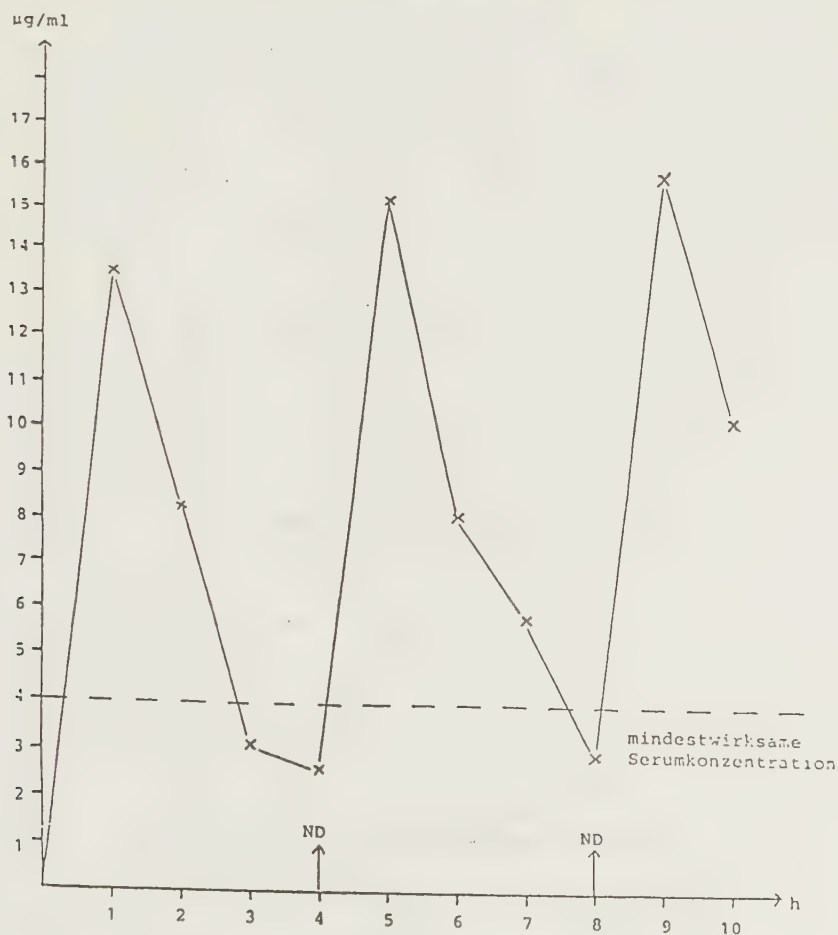


Abb. 12 Nachdosierung von 5 mgG./kgKGW/4 Std.; $\bar{x}$ aus $n = 3$
ND = Nachdosierung

Nachweis- methode	h	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
TD x	$\bar{x}$	13,50	8,03	3,10	2,60	15,31	8,17	5,88	2,96	16,00	10,34
	s	2,14	0,94	0,87	0,24	1,62	2,04	1,01	0,37	0,20	2,03
	$\bar{x}'$	11,45	6,45	1,40	0,64	11,00	4,50	3,95	1,28	12,30	6,23
HS	s	2,47	0,07	1,03	0,14	6,01	0,07	0,71	0,07	1,34	5,30

Abb. 13 Nachdosierung von 5 mg G./kg KGW/4 Std.; $\bar{x}$ aus n = 3

HS = Hemmstofftest

Bei der Gruppe, die 10 mg G./kgKGW/6 Std. erhielt, zeigte sich, daß die Serumspitzenkonzentrationen in der ersten Stunde nach der Applikation mit 23,92 $\mu\text{g G./ml}$ bzw. 26,21 $\mu\text{g G./ml}$ sehr hoch lagen, die Talkonzentrationen sanken nach 5 Stunden auf 0,73 und nach 10 Stunden auf 1,42 $\mu\text{g G./ml}$ und waren damit sehr niedrig. In der Nacht erfolgte keine Applikation, nach 23 Stunden betrug der Serumspiegel 0,99, nach 24 Stunden 0,94 $\mu\text{g G./ml}$ (Abb. 14 und 15).

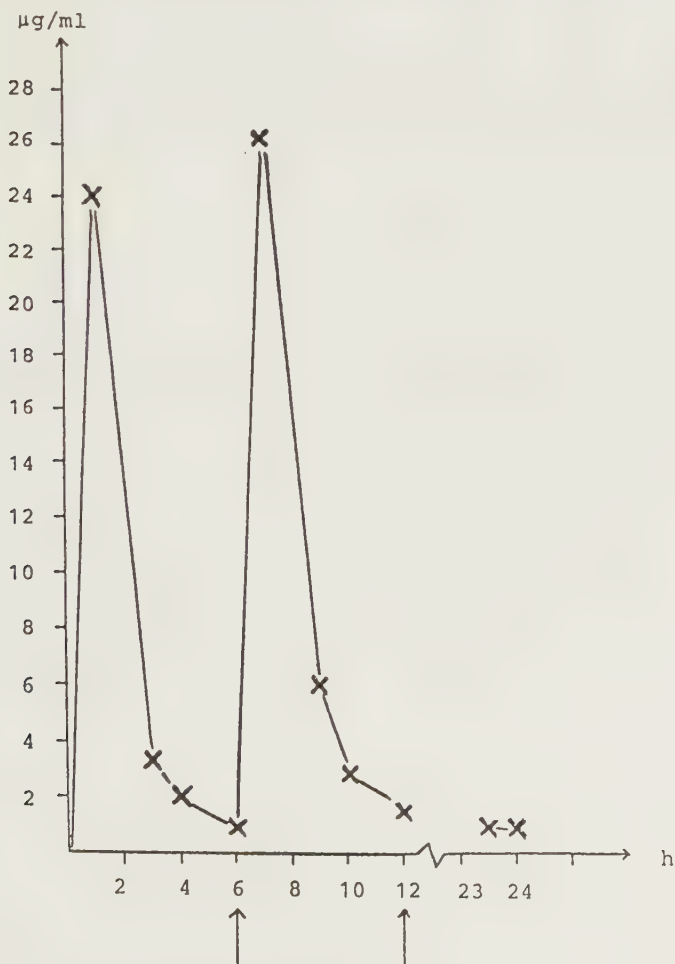


Abb. 14 Nachdosierung von 10 mg G./kgKGW/6 Std;
 $\bar{x}$ aus $n = 3$

h	$\bar{x}$ µgG./ml Serum	s
1	23,92	1,34
3	3,20	1,73
4	1,99	1,03
6	0,73	0,09
7	26,21	1,62
9	5,90	2,85
10	2,72	2,07
12	1,42	0,27
23	0,99	0,04
24	0,94	0,17

Abb. 15 Nachdosierung von 10 mg G./kgKGW/6 Stunden;
 $\bar{x}$ aus n = 3

Ein Vergleich von Ergebnissen, die im Hemmstofftest und dem TD_x -System erzielt wurden, zeigt, daß bei ersterem die Werte zwar die gleiche Dimension aufweisen, aber insgesamt niedriger liegen, insbesondere bei den niedrigeren Serumkonzentrationen (Abb. 13).

5.3

Versuch III

Die Ergebnisse des Vergleichs verschiedener Firmenpräparate lassen sich folgendermaßen darstellen: (Abb. 16 und 17).

h	Logenta ^R		Gentakél ^R		Sanicalv ^R		Gentovet ^R		Sulmycin ^R	
	µgG./ml Serum	s	µgG./ml Serum	s	µgG./ml Serum	s	µgG./ml Serum	s	µgG./ml Serum	s
1	36,19	17,93	13,10	1,60	8,12	3,99	18,03	7,40	19,06	0,91
2	9,07	3,08	8,28	0,78	2,30	1,02	7,22	5,15	6,27	0,62
3	3,53	0,66	3,03	1,26	1,89	0,87	2,62	1,29	3,18	1,31
4	1,26	0,33	1,79	0,91	1,18	0,75	1,60	0,92	1,59	0,54
5	1,06	0,21	1,13	0,38	0,68	0,35	0,60	0,12	0,57	0,02
6	0,61	0,17	0,41	0,02						

Abb. 16 Vergleich verschiedener Firmenpräparate bei einer einmaligen Dosis von 5 mgG./kgKGW; s = Standardabweichung $\bar{x}$ aus $n = 3$

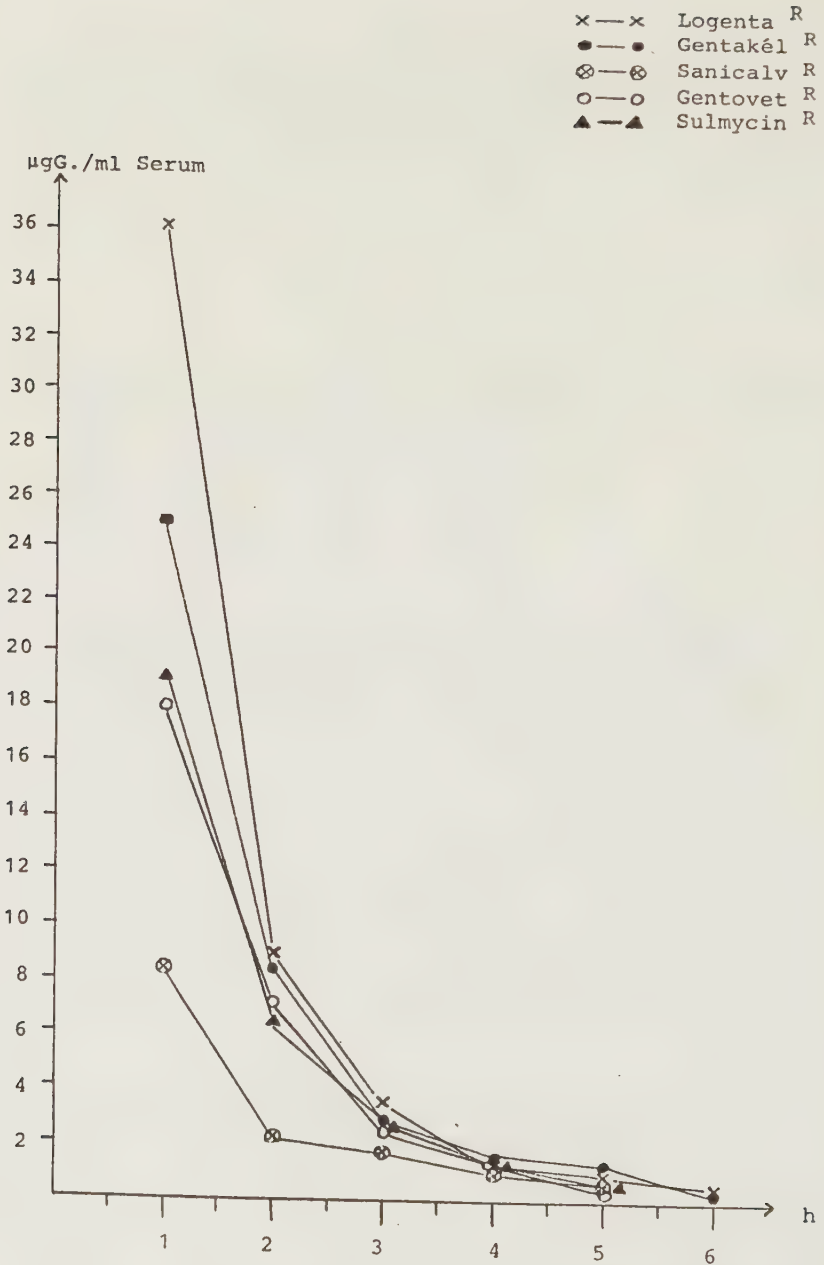


Abb. 17 Vergleich verschiedener Firmenpräparate bei einer einmaligen Dosis von 5 mgG./kgKGW; $\bar{x}$ aus $n = 3$

5.4

Versuch IV

Bei klinisch gesunden Tauben zeigen nach einer einmaligen Dosis von 5 mgG./kgKGW Leber und Niere die höchsten Gewebskonzentrationen. In der Niere lag die Höchstkonzentration von 43,01 µg G./g Gewebe bei 5 Stunden p.appl., in der Leber befanden sich zwei Peaks von 3,24 und 3,16 µg G./g Gewebe nach 1 bzw. nach 24 Stunden p.appl. (Abbl. 19). In Muskel und Gehirn wurden nur niedrige Konzentrationen erreicht.

h	Serum		Niere		Leber		Muskel		Gehirn	
	$\mu\text{gG.}/\text{ml}$	s	$\mu\text{gG.}/\text{g}$	s	$\mu\text{gG.}/\text{g}$	s	$\mu\text{gG.}/\text{g}$	s	$\mu\text{gG.}/\text{g}$	s
1	8,28	0,95	29,52	4,57	3,24	1,81	0,28	-	0,16	-
3	2,05	0,67	34,04	8,43	2,04	0,21	0,08	-	0,16	-
5	0,54	0,35	43,01	5,31	2,89	0,34	0,16	-	0,16	-
24	0,16	-	22,47	7,39	3,16	0,18	0,16	-	0,56	-
48	0,16	-	6,87	2,39	1,87	0,29	0,16	-	0,20	-
72	0,16	-	5,05	2,02	1,43	0,19	0,58	-	0,16	-

Abb. 19 Blut- und Gewebespiegel bei klinisch gesunden Tauben nach einer einmaligen Dosis von 5 mgG./kgKGW
 Werte von Muskel und Gehirn stammen nur von einem Tier bzw. die Werte Muskel/72 h und Gehirn/48h von zwei Tieren. $\bar{x}$ aus $n = 3$.

5.4.1 Gewebsveränderungen durch G.

Die Lebern der drei getöteten, mit G. behandelten Tiere zeigten makroskopisch und histologisch ein Bild, das dem einer gesunden Taube entsprach. Nur vereinzelt waren lympho- und histiozytäre Infiltrate zu finden, die nicht regelmäßig lokalisiert waren und sowohl interstitiell als auch perivaskulär lagen.

Die Nieren dieser Tiere waren im Sinne einer Nephrose mit Hyperplasie der Tubuli recti verändert. Die entzündlichen Infiltrate lagen besonders perivasal, zum Teil fanden sich abgekapselte Lymphknötchen entlang der Gefäße. Im Bereich der Entzündungen waren die Tubuli nephrotisch verändert, teilweise mit Kernverlusten und Nekrosen. Hier waren sowohl Tubuli recti als auch contorti betroffen, bei manchen waren die Epithelien hoch und verquollen und führten damit zum Verschuß der Tubuli. Die großen Glomerula waren meist erhalten, die Kerne blasig und die Bowman'sche Kapsel zeigte einen halbmondförmigen Erguß. Die kleinen Glomerula des Nierenmarks waren nicht verändert, aber etwas blutreicher. Um die ableitenden Kanäle zeigte sich eine starke Anhäufung von entzündlichen Infiltraten, die Epithelien waren zum Teil verquollen. Das Rete renalis zeigte in seinen Kapillaren eine starke Blutfülle (Abb. 20).

Abb.20 Niere einer mit G. behandelten und nach 3 Tagen
getöteten Taube (100-fach).



5.5 Versuch V

Bei den 18 mit Salmonellen infizierten Tieren starb die Hälfte innerhalb einer Woche, bevor G. appliziert wurde, und zwar zwei am Tag der Infektion, drei zwei Tage, eine drei Tage, eine vier Tage und zwei fünf Tage nachdem die Infektion gesetzt wurde. Bis auf eines der Tiere, das am dritten Tag verendete, waren alle anderen intravenös infiziert worden.

5.5.1 Pathologie

Das pathologisch-anatomische Bild zeigte bei allen diesen Tieren eine Myodegeneratio cordis, Hepatitis, hochgradige Nephritis, Enteritis catarrhalis mit petechialen Blutungen in der Darmschleimhaut und wäßrigen Darminhalt (Abb. 21).

Abb.21 Aufnahmen einer mit Salmonellen infizierten und
G. behandelten Taube



5.5.2 Histologie

5.5.2.1 Histologie von mit Salmonellen infizierten und verendeten Tieren

Ein drei Tage p.inf. gestorbenes Tier zeigte an der Niere eine hochgradige Stauungsblutfülle, vakuoläre Degeneration der Tubulusepithelien mit Bevorzugung der Tubuli recti und eine wenig ausgeprägte interstitielle Nephritis. An den entzündlichen Infiltraten waren Makrophagen, Lymphozyten und wenige Heterophile beteiligt.

In der Leber des gleichen Tieres zeigten die Wände der Arterien und Venen ödematische Verbreiterungen, wobei gleichzeitig eine mäßige Blutfülle vorlag. Eine große Menge der Leberzellen war vakuolig degeneriert. Vereinzelte Leberzellnekrosen konnten festgestellt werden. Gefäßgebunden lagen einige kleinere entzündliche Infiltrate aus Lymphozyten und Makrophagen vor.

Bei zwei Tieren, die sechs Tage nach Infektion kurz vor Behandlungsbeginn starben, waren die Veränderungen im Parenchym wesentlich intensiver.

In den Nieren bestand eine hochgradige interstitielle Nephritis, bei der besonders perivaskulär umfangreiche Infiltrate aus Lymphozyten, Makrophagen und wenige Heterophile anzutreffen waren. In den Gefäßen lag eine ausgeprägte Thrombenbildung vor. Die entzündlichen Infiltrate drängten die stark veränderten Tubuli weit auseinander und überdeckten zugrunde gegangenes Gewebe des Tubulusepithels. Das Tubulusepithel war stark eosinophil und gequollen und verschloß das Lumen nahezu völlig. Die Kerne befanden sich weitgehend in Auflösung. Die Veränderungen waren in größerem Umfang bei den Tubuli recti anzutreffen. Die Glomerula sowohl der Rinden- als auch der Markschiicht zeigten keine pathologischen Veränderungen. Ihre Kerne wirkten etwas lichter und größer als normal.

In den Prozeß waren große Gebiete der Niere ohne besondere Lokalisation einbezogen. Dazwischen lagen einzelne Bezirke, die

völlig normal aussahen.

Bei der Leber dieser Tiere dominierte eine hochgradige diffuse Hepatitis mit einer starken Vasculitis. Dabei waren die Gefäße zum Teil aufgelöst und wiesen eine massive Thrombenbildung auf. Die Leberzellen waren gehäuft nekrotisch und die Kupffer'schen Sternzellen aktiviert. Unter den Entzündungszellen, die meist herdförmig angeordnet waren, befanden sich in großer Vielzahl Lymphozyten, Makrophagen und heterophile Granulozyten.

5.5.2.2 Histologie von mit Salmonellen infizierten und mit G. behandelten Tieren

Die am Tag der Applikation von G. getöteten Tiere zeigten gleich - starke Nierenveränderungen wie die am 6. Tag p.inf. verendeten Tiere. Auch hier handelte es sich um eine hochgradige intersti - tielle Entzündung mit Venenthrombosen. An den entzündlichen In - filtraten waren in starkem Umfang Heterophile und Plasmazellen beteiligt. Es waren nicht nur die Epithelien der Tubuli recti, sondern auch diejenigen der Tubuli contorti in den nephrotisch - nekrotischen Prozeß mit einbezogen. Die interstitiellen Entzün - dungsherde breiteten sich auch um die Glomerula aus, die aber selbst weitgehend unverändert erschienen.

In der Leber hatte die Salmonelleninfektion zu diesem Zeitpunkt eine schwere entzündliche, meist perivaskulär lokalisierte Reak - tion ausgelöst. Die Gefäße selbst zeigten eine ödematöse Auf - lockerung und zum Teil entzündliche Infiltrate und Endothelver - luste. Eine Venenthrombose war nicht selten. Infiltrate aus Lym - phozyten, einigen Plasmazellen und Makrophagen befanden sich vor - wiegend in den Glisson'schen Dreiecken und reichten von da aus weit in die Umgebung. Die Kupffer'schen Sternzellen zeigten auf - fallend wenig Reaktion. Bei den Leberzellen fand sich eine pa - renchymatöse und vakuoläre Degeneration und im Bereich der In - filtrate Zelluntergang.

Zehn Tage post infectionem und 3 Tage nach Applikation des G.

hatte sich das pathologische Bild von Leber und Niere getöte -
ter Tiere kaum verändert. An den entzündlichen Infiltraten der
Niere waren etwas mehr Heterophile beteiligt. Die Glomerula
erschieden bisweilen zellreicher im Sinne einer Aktivierung
der vorhandenen Zellen. Entzündungszellen waren nicht einge -
wandert (Abb. 22, und 23).

Eines der Tiere zeigte auffallend geringe Infiltrate.

5.5.3 Blut- und Gewebsspiegel

Der Serumspiegel dieser Tiere zeigte nach einer Stunde eine
Höchstkonzentration von 8,57 $\mu\text{g}/\text{G.ml}$, nach fünf Stunden war be -
reits kein G. mehr nachweisbar. Die Niere hatte nach 1 Std.
die höchste Gewebskonzentration von 15,24 $\mu\text{g G./g Gewebe}$, da -
nach erfolgte ein rasches Absinken der G.-Werte. Bei der Leber
zeigten nur zwei der Tiere nach 1 Std. einen Gewebsspiegel -
(Mittelwert 1,34 $\mu\text{g G./g Gewebe}$), danach war keine G.-Konzen -
tration mehr meßbar (Abb. 24).

h	Serum $\mu\text{g G./ml}$	s	Niere $\mu\text{gG./ml}$	s	Leber $\mu\text{gG./g}$	s
1	8,57	1,13	15,24	4,32	1,34	0,03
5	- 0,16	-	7,37	4,44	-0,16	-
72	- 0,16	-	1,96	1,09	0,16	-

Abb. 24 Blut- und Gewebespiegel bei mit $10^9/\text{ml}$ Salmonellen
i.m. infizierten Tauben nach einer einmaligen Dosis
von 5 mg G./kgKGW eine Woche nach Infektion;
 $\bar{x}$ aus $n = 3$

Abb. 22

Niere eines mit Salmonellen infizierten
Tieres 3 Tage nach Applikation des G.
(400-fach)

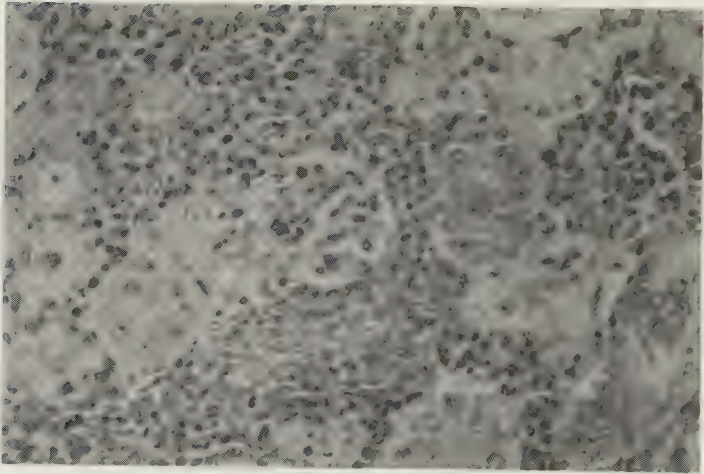


Abb. 23

Leber eines mit Salmonellen infizierten
Tieres 3 Tage nach Applikation des G.
(100-fach.)



6. Diskussion

Das Aminoglykosidantibiotikum G. besitzt eine hohe antibakterielle Aktivität gegen die meisten gramnegativen und gegen viele grampositive Erreger mit wenig Resistenzen. In der Vogelpraxis wurde es bisher kaum eingesetzt, da wenig über die optimale Dosierung und die günstigsten Nachdosierungsintervalle bekannt ist.

G. besitzt eine relativ hohe Oto- und Nephrotoxizität, aus diesem Grunde wird es in der Humanmedizin nur unter Klinikbedingungen eingesetzt, wo eine genaue Kontrolle über den Verlauf des Blutspiegels durchgeführt werden kann. In der Tiermedizin hingegen bleibt trotz Dosierungsanweisungen immer ein Unsicherheitsfaktor, weil sich unter Praxisbedingungen nur schwer die beeinflussenden Faktoren auf die G.-Ausscheidung abklären lassen. HARTWICH (1982) untersuchte die Ausscheidung von G. nach der Applikation einer Menge von 10 mg/kg in einem stündlichen Sammelverfahren des Kot-Harn-Gemisches. Dabei war mit 15 µg G./ml Kot-Harn-Gemisch nach einer Stunde der höchste Ausscheidungswert festzustellen. Die Untersuchung wurde mit dem Hemmstofftest durchgeführt, bei dem pro Platte 4 ml Agar ausgegossen wurden. Testkeim war *Bac. cereus*, Dichte 10^7 /ml (Abb. 25 und 26).

Ein klinisch unauffälliges Erscheinungsbild läßt keine Rückschlüsse auf den Zustand der Nierenfunktion zu. MAC DIARMID (1983) wies die breite Palette an Faktoren auf, die individuell die Absorption eines Medikaments vom Applikationsort beeinflussen können. Wenn man einen Taubenbestand mit der auf das Körpergewicht bezogenen gleichen Dosis G. therapiert, ist mit Schwankungen in der Blutkonzentration zu rechnen, allein durch die unterschiedlichen Muskel-Fett-Verhältnisse oder abweichende Extrazellulärvolumina bei den verschiedenen Tieren. Auch ist nie auszuschließen, daß einzelne Tiere durch frühere oder bestehende Infektionen eine Nierenschädigung aufweisen und sich dadurch die Ausscheidung verändert.

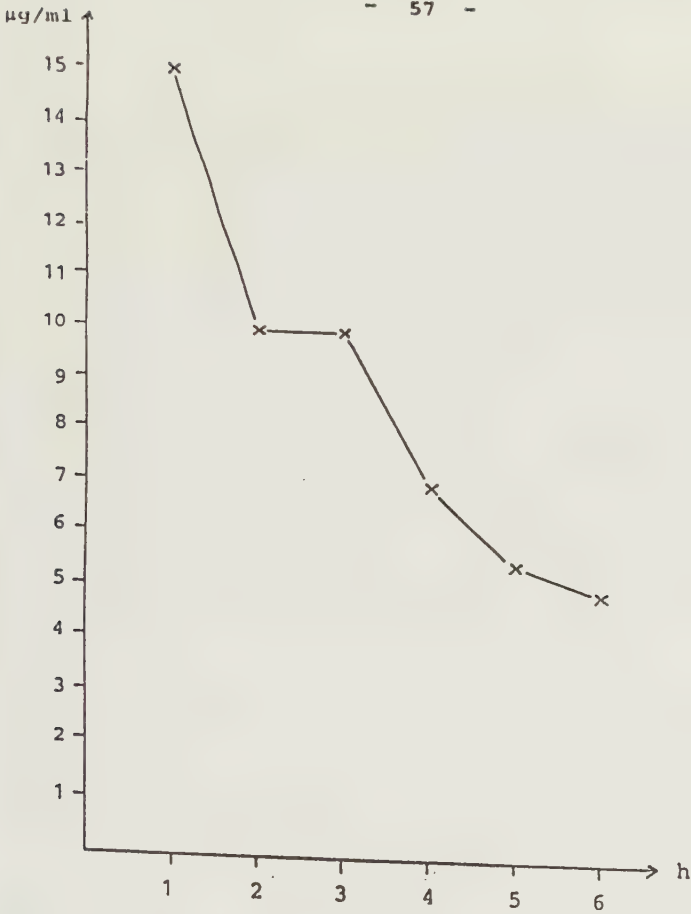


Abb. 25 G.-Ausscheidung nach einer Dosis von 10 mgG./kgKGW; n = 10

h	1	2	3	4	5	6
µgG./ml	15,0	10,0	10,0	7,0	5,5	5,0

Abb. 26 G.-Ausscheidung nach einer Dosis von 10 mgG./kgKGW; n = 10

Schon SPREAT und BICKFORD (1977) weisen darauf hin, daß vom G.-Blutspiegel nicht auf die Konzentration in den Organen geschlossen werden kann. Auch die verschiedenen Erreger besitzen nicht ihre höchste Konzentration im Blut, sondern weisen eine hohe Affinität zu dem Parenchym von Leber und Niere auf.

CHISHOLM (1968) geht soweit zu behaupten, daß eine optimale Kontrolle des G.-Spiegels nur über die renale Lymphe möglich wäre, da sie das Nierenvolumen kontrolliert, bei zu hoher interstitieller Flüssigkeit diese abtransportiert und besonders bei Verschuß der Ureteren als Abflußmechanismus dient. Dieser Lymphmechanismus funktioniert auch noch nach länger bestehender Nierenschädigung wie zum Beispiel durch Pyelonephritis (RABICS und RÉNYL-VÁMOS 1964; CHISHOLM und CALNAN 1967; zitiert von CHISHOLM 1968). An diesen Regelkreis ist bei der Ausscheidung von G. auch bei nierengeschädigten Tieren zu denken. Folglich darf man auch nicht unbedingt von der G.-Konzentration im Harn auf die im Nierenparenchym schließen (CHISHOLM 1968).

Bei der Kontrolle von Blutspiegeln muß man bedenken, daß der mindestwirksame G.-Spiegel von 4 µg/ml in vitro errechnet wurde. Die minimale Hemmkonzentration (MIC) wird aber durch verschiedene Nährmedien beeinflusst, zum Beispiel durch Phosphatpuffer, so daß sie nicht allgemein genau definiert werden kann (SHANSON und DANIELS 1975). Es ist auch damit zu rechnen, daß durch die unterschiedlichen pH-Verhältnisse im Blut und in den Gewebeflüssigkeiten in vivo Abweichungen gegeben sind. Die Konzentration von 4 µg/ml ist folglich als untere Grenze anzunehmen.

Bei der Applikation einer Einzeldosis stellte sich heraus, daß entgegen den Angaben aus der Literatur (BUSH 1977 und 1983) eine Menge von 5 mg G./kgKGW ausreicht, um die gewünschte Konzentration von mindestens 4 µg/ml Blut zu erlangen, die doppelte Dosis führt zu keiner Verlängerung des therapeutischen Spiegels und gerät außerdem in ihren Serumhöchstkonzentrationen zu sehr in den toxischen Bereich, der bei 12 µg G./ml Blut beginnt (CUSTER et al. 1979). Der schnelle Abfall der optimalen Konzentration zeigt,

daß eine einmalige Applikation zur Bekämpfung von Infektionen nicht ausreichen wird.

Dabei ist es nach einer Untersuchung von HARTWICH (1982) unwesentlich, ob eine Injektionslösung vor Applikation ein- oder mehrmals eingefroren war. Es konnte in einem Agardiffusionstest festgestellt werden, daß Injektionslösungen, die wiederholt eingefroren und wieder aufgetaut wurden, jeweils gleiche Hemmhöfe ausbildeten.

Für eine Nachdosierung empfiehlt sich ein Intervall von 5 mg G./kgKGW/4 Stunden. Die von BUSH (1977 und 1983) empfohlene Menge von 10 mgG./kgKGW alle 6 Stunden führt zu Serumhöchstkonzentrationen, die weit im toxischen Bereich liegen, und zu einem zu starken Absinken der Talkonzentrationen unter 2 µgG./ml Blut vor einer erneuten Applikation. Da unter Praxisbedingungen in der Nacht eine Unterbrechung der Applikation erfolgen muß, ist hier mit einem starken Absinken des Blutspiegels bis zur nächsten Injektion zu rechnen.

Die einzelnen G.-Präparate unterscheiden sich kaum in ihrer Zusammensetzung und Anwendungsmöglichkeit, wenn auch nur das Gentakel 02^R der Firma Vetripharm für den Vogel empfohlen wird. Interessant waren demzufolge die starken Abweichungen, die sich in den Serumspitzenkonzentrationen ergaben. Zum Teil kann dieses durch individuelle Schwankungen bedingt sein, es lagen aber die Werte aller Tiere einer Gruppe, der ein bestimmtes Präparat verabreicht wurde, in der gleichen Dimension. Bei den verdünnten Präparaten wäre die Erklärung eventuell in eben dieser Veränderung der Konzentration zu sehen, obwohl gründlich gemischt wurde. Möglicherweise wären damit diese Präparate beim Vogel nicht anzuwenden, da sie relativ hohe Anfangskonzentrationen im Blut bewirken. Bei den übrigen Versuchen wurde immer mit Refobacin^R gearbeitet. Hier zeigten sich bei den verschiedenen Versuchsreihen, bei denen immer wieder mit anderen Tieren gearbeitet wurde, Abweichungen der Serumhöchstkonzentrationen und der Dauer des wirksamen Spiegels in den einzelnen Gruppen. Dieses unterstreicht die Ergebnisse von BARZA und LAUERMANN (1977) über die bei Pa -

tient zu Patient abweichende Geschwindigkeit der Resorption vom Applikationsort und der Ausscheidung. Im Prinzip wären wohl alle in diesen Untersuchungen geprüften Präparate für den Vogel unter Berücksichtigung der oben genannten Faktoren ähnlich zu beurteilen, da es zu keiner deutlichen Kumulation kommt.

Zur Beurteilung der Verteilung eines Medikaments im Organismus genügt nicht die Kontrolle des Blutspiegels, man benötigt zumindest die Konzentration im Parenchym von Leber und Niere. G. besitzt eine hohe Affinität zum Nierengewebe, daher ist es interessant, welche Konzentrationen zu dem Zeitpunkt in der Niere vorhanden sind, währenddessen man im Blut einen therapeutischen Spiegel vorfindet. Bei der gesunden Taube findet man verglichen mit Leber, Muskulatur und Gehirn in der Niere die höchsten Konzentrationen. Dieses bestätigt die Ergebnisse von SPREAT und BICKFORD (1977) und BUSH et al. (1981). Die niedrige Konzentration in der Brustmuskulatur läßt darauf schließen, daß bei der Taube ein sehr rascher Abtransport des G. aus der Umgebung der Injektionsstelle stattfindet. Zu dem Zeitpunkt, an dem man eventuell eine Nachdosierung vornehmen würde, findet man in der Niere die höchste Konzentration, die weit im toxischen Bereich liegt. Die drei Tage nach einer einmaligen Applikation an gesunden Tauben histologisch festgestellte Nephrose muß ihre Ursache aber nicht unbedingt in der Wirkung des G. haben. Festzustellen ist nur, daß sie bei allen drei der untersuchten und klinisch gesunden Tiere vorhanden war und daß, wie es auch wiederholt in der Literatur zu finden ist, bei Applikation von G. mit einer Nierenschädigung zu rechnen ist. Auffallend war bei den untersuchten Tieren die Lokalisation von Entzündungsherden um die ableitenden Kanäle. Welche Bedeutung diesen Ergebnissen zuzumessen ist, kann im Rahmen dieser Arbeit nicht geklärt werden.

Bei einer Infektion mit *Salmonella typhimurium* var. copenhagen findet offensichtlich eine relativ höhere Nierenschädigung statt. Dabei sind vorwiegend die Tubuli recti betroffen, die nekrotisch zugrundegehen oder durch Ödematisierung des Epithels verschlos-

nen werden. Die Glomerula hingegen bleiben weitgehend unversehrt. Dabei muß berücksichtigt werden, daß die Infektion mit einer hohen Keimdichte gesetzt wurde. Bei den intravenös infizierten Tieren kam es zu hohen Ausfällen, weil es sich hier um einen unüblichen Infektionsweg handelt. G. wird, wie oben erwähnt, glomerulär filtriert und zu einem relativ hohen Prozentsatz von bis zu 40 % rückresorbiert. Bei einer so durch Salmonellen geschädigten Niere könnte der Transport von G. sich in der Weise gestalten, daß es unvermindert ausgeschieden, aber nicht mehr rückresorbiert wird. Das kann einen raschen Abfall der Konzentration im Blut und in Leber und Niere zur Folge haben. Sieben Tage post infectionem traf das applizierte G. auf eine in diesem Sinne geschädigte Niere und die unerwarteten niedrigen Konzentrationen könnten so ihre Erklärung finden. Daraus ergibt sich, daß die beim klinisch gesunden errechneten Dosierungen und Dosierungsintervalle nicht ohne weiteres auf das kranke Tier zu übertragen sind. Im Falle der akuten Salmonellose müßte sicher unter Berücksichtigung der Konzentration in der Niere das Dosierungsintervall verlängert werden. Dabei kann sich aber unter dem therapeutischen Effekt des G. die Situation in der Niere wieder verbessern, worauf wieder mit einer Kumulation zu rechnen ist. Bei einer stark geschädigten Niere, die überhaupt kein G. mehr ausscheiden kann, wird man zu einer niedrigeren Dosis greifen müssen.

Unter Berücksichtigung dieser gravierenden Faktoren, daß

1. unter Praxisbedingungen beim Vogel eine genaue laufende Kontrolle der Blut- und Gewebespiegel nicht möglich ist,
2. daß die Gefahr der Kumulation und der Toxizität besteht und daß
3. die Dosis jeweils individuell abgestimmt werden muß, ist die Verwendungsmöglichkeit von G. bei der Taube anhand der Ergebnisse dieser Arbeit in Frage zu stellen. Möglich wäre unter Umständen im Falle von Resistenzen gegen andere Breitbandantibiotika eine einmalige Anwendung bei leichteren Infektionen oder eine längere Therapie unter Klinikbedingungen mit gelegentlicher Kontrolle der Blutspiegel.

Da unter Praxisbedingungen in der Nacht eine Unterbrechung der Applikation erfolgen muß, ist hier mit einem starken Absinken des Blutspiegels bis zur nächsten Injektion zu rechnen.

Gewebespiegel bei der gesunden Taube zeigen, daß man auch bei der Taube in Niere und Leber die höchsten Konzentrationen findet. Das bestätigt die Ergebnisse von SPREAT und BICKFORD und von BUSH et al.. In Muskulatur und Gehirn sind verschwindend niedrige Konzentrationen zu finden. Die hohen Konzentrationen in Niere und Leber beweisen, daß der Blutspiegel keinen Hinweis auf die Wirkstoffkonzentration in den Organen gibt. Die Untersuchung von Gewebespiegeln bei mit Salmonellen infizierten Tieren brachten neue Erkenntnisse über den Verlauf des G.-Spiegels während einer akuten Infektion mit Allgemeinstörungen. Es lagen sowohl Nieren- als auch Leberspiegel weit unter den Werten von gesunden Tieren, in der Leber und im Serum waren nach fünf Stunden keine Konzentrationen mehr nachzuweisen. Dabei wären nur der Nierenspiegel bis zu fünf Stunden bakteriell aktiv, bei einer Nachdosierung wäre eventuell mit einer Kumulation zu rechnen. Die niedrigen Spiegel wären rein theoretisch vielleicht damit zu erklären, daß die Ausscheidung durch die Glomerula bei den geschädigten Nieren noch stattfinden konnte, die Rückresorption durch die zum Teil nekrotischen Tubuli nicht mehr möglich war.

Die Beobachtung des Absinkens des G.-Spiegels im Falle einer Unterbrechung der Applikation stellt die Anwendung von G. bei der Taube in Frage. Zu beachten ist, daß die Ergebnisse über die Nachdosierung bei gesunden Tieren durchgeführt wurde. Es ist bisher nicht bekannt, wie die Spiegel unter den verschiedenen Infektionsverläufen variieren. Heilerfolge mit zufällig gewählten Dosierungen lassen sich eventuell mit individuellen Unterschieden in der Resorption oder durch eine Kumulation erklären. Bei einem zu niedrigen therapeutischen Spiegel muß an die Ausbildung von Resistenzen gedacht werden. Bei Anwendung in der Praxis muß immer damit gerechnet werden, daß eine zu schnelle Ausscheidung oder eine Kumulation des Wirkstoffes erfolgt. Die beschriebene Infektion mit *Salmonella typhimurium* ist nur eine der An -

wendungsgebiete, für die G. empfohlen wird, über deren Einfluß auf Spitzen- oder Talkonzentrationen in Blut und Organen aber noch keine Veröffentlichungen vorliegen. Es ist nur festzustellen, daß es bei der Taube zu keiner Kumulation des Wirkstoffes kommt, so lange die Glomulera nicht geschädigt sind.

In der Humanmedizin bietet sich die individuelle Kontrolle von Plasmaspiegeln und die Überwachung der Nierenfunktion anhand der Clearance oder dem Rest-N-Anstieg an. In der Vogelpraxis wird man weiterhin, bis neue Arbeiten über den G.-Spiegel beim erkrankten Vogel vorliegen, mit Vorsicht dosieren müssen.

7. Zusammenfassung

G. ist ein Breitbandantibiotikum aus der Gruppe der Aminoglykosidantibiotika. Es wird zur Bekämpfung von gramnegativen- und positiven Erregern eingesetzt. Es wird der Verlauf von Blut- und Gewebsspiegeln bei der gesunden und der mit *Salmonella typhimurium* var. copenhagen infizierten Taube nach Verabreichung von G.-Injektionslösungen in verschiedenen hohen Konzentrationen und unterschiedlichen Dosierungsintervallen beschrieben. Eine Dosis von 5 mg/kg bei der gesunden Taube gewährt einen therapeutischen Blutspiegel von mindestens 4 µg/ml für zwei Stunden, nach 4 Stunden besteht mit Werten um 2 µg/ml ein optimaler Zeitpunkt für eine Nachdosierung.

Die Präparate verschiedener Hersteller zeigen Unterschiede in den Serumhöchstkonzentrationen sowie im zeitlichen Verlauf des Wirkstoffspiegels, sind aber im Prinzip für die Taube alle ähnlich zu beurteilen. Es waren während der Applikation von 5 bzw. 10 mg G./kgKGW keine klinischen Nebenwirkungen festzustellen.

Untersuchungen der Gewebsspiegel zeigten in der Niere eine Höchstkonzentration von 43,01 µgG./g Gewebe nach 4 Stunden und danach ein Absinken der Werte. In der Leber bewegten sich die Konzentratio -

nen zwischen 3,24 $\mu\text{g G./g Gewebe}$ (höchste Konzentration nach einer Stunde) und 1,43 $\mu\text{g G./g Gewebe}$ (nach 72 Stunden). In der Brustmuskulatur waren nur sehr niedrige Werte nachzuweisen mit einem Peak von 0,58 $\mu\text{g G./g Gewebe}$ erst nach 72 Stunden. Im Gehirn war G. nach 24 Stunden mit 0,56 $\mu\text{g G./g Gewebe}$ nachzuweisen.

Durch die Wirkung von G. allein ist eine Nierenschädigung nicht auszuschließen.

Tauben, die eine Woche vor Applikation des G. mit 10^9 Salmonellen infiziert wurden, zeigten in Serum, Nieren und Leber unerwartet niedrige G.-Werte. Im Serum war nach fünf Stunden kein G. mehr nachzuweisen, in der Niere betrug die Höchstkonzentration nach einer Stunde 15,24 $\mu\text{g G./g Gewebe}$, in der Leber 1,34 $\mu\text{g G./g Gewebe}$. Die histologische Untersuchung ergab, daß durch die Salmonellen eine starke Schädigung an Nieren und Leber stattfand.

Die Ergebnisse stellen in Frage, ob G. bei der Taube angewendet werden sollte. Blutspiegel sagen nichts über die Konzentration in den Geweben aus, zudem müßte laufend alle vier Stunden nachdosiert werden, um einen therapeutischen Spiegel aufrecht zu halten. Beim erkrankten Tier ist mit einer Änderung der Ausscheidungsgeschwindigkeit und -weise zu rechnen.

The course of gentamicin level in serum and tissues of the pigeon (*Columba livia* Gmel., 1789 var. domestica)

Summary

Gentamicin, a broad spectrum aminoglycoside antibiotic, is used to treat gram-negative and -positive infections. The way of blood and tissue concentrations in healthy and *Salmonella* infected pigeons after administration of injectable G. in various dosages and intervals of application is described.

The administration of 5 mg G./kg/4 hours to pigeon will provide a therapeutic blood concentration of greater than 4 µg G./ml up to two hours after injection, after four hours there is the optimal time for repeating the administration.

Different preparations of G. from various producers show various peak concentrations and duration of therapeutic concentration, but they may be judged similarly for pigeons. There have been no clinical side effects during administration.

It can not be excluded that kidney damage because of G. is possible.

Evaluation of tissue concentrations showed for the kidney a peak concentration of 43,01 µg G./g tissue, after 4 hours, than the concentration dropped. In the liver concentration levels were found between 3,24 µg G./g tissue (peak concentration after one hour) and 1,43 µg G./g tissue (after 72 hours). In breast muscle only low concentrations could be proved with a peak of 0,58 µg G./g tissue after 72 hours. In brain G. could be proved after 24 hours with 0,56 µg G./g tissue.

Pigeons infected with 10^9 *Salmonella* one week before administration of G. showed unexpected low levels in plasma, kidney and liver. There was no serum concentration after five hours, peak level in kidney was 15,24 µg G./g tissue after one hour, in liver 1,34 µg G./g tissue. The histologic examination demonstrated a high damage to kidney and liver because of *Salmonella*.

The results call the administration of G. to pigeon in question. There is no relation between serum and tissue concentrations. The receive a constant therapeutic level all four hours doses have to be given continuously. Illness might change time and way of exretion.

El curso de la concentración de gentamicina en el suero y los tejidos de la paloma (*Columba livia* Gmel., 1789 var. domestica).

Resumen:

Gentamicina (G.), un antibiótico de amplia eficacia, pertenece al grupo de los antibióticos aminoglicosídicos. Se usa para el control de bacterias negativas y positivas en tinción según Gram.

Se controlaron el curso de la concentración de G. en suero y tejidos de palomas clínicamente sanas y libres de parásitos y *Salmonella*, o sea experimentalmente infectadas con *Salmonella typhimurium* var. copenhagen después de inyección del antibiótico en diferentes cantidades e intervalos.

La inyección de 5 mgG./kg peso vivo garantiza una concentración de por lo menos 4 µgG./ml suero por 2 horas en la paloma sana. En un lapso de 4 horas la concentración se disminuye a 2 µgG./ml suero y debe ser reinyectada.

El control de la concentración de G. en los riñones mostró su máximo 4 horas después de la aplicación intramuscular con 43,01 µgG./g tejido. En el hígado la concentración fluctuó entre 3,24 µgG./g (máximo después 1 hora) y 1,43 µgG./g tejido 72 horas después de la inyección. La concentración en el músculo pectoral y el cerebro quedó muy baja. Por la aplicación de G. en concentraciones terapéuticas se producen perjuicios renales histológicamente observables.

En palomas infectadas con *Salmonella typhimurium* var. copenhagen las concentraciones de G. en suero y tejidos renales y hepáticos quedaron muy bajas después de la aplicación del antibiótico en dosis terapéutica. Eso se debe probablemente a los daños producidos por *Salmonella*.

Los resultados ponen en duda, si el uso de Gentamicina es razonable para el tratamiento de palomas y además de otras aves.

8.

Literaturverzeichnis

ANONYM

Betriebsanleitung TD_x/Abbott

BARNES, L.E.

Gentamicin levels in chicken eggs and

LOY, J.I.

tissues of progeny following temperature-differential dipping.

BICKFORD, S.M.

Avian Dis. 17, 3, 594-597, 1973

BARZA, M.

Antimicrobial spectrum, pharmacology and therapeutic use of antibiotics - part 4: aminoglycosides.

SCHEIFE, R.T.

Am.J.Hosp.Pharm. 34, 723-737, 1977

BARZA, M.

Why monitor serum levels of gentamicin?

LAUERMANN, M.

Clinical Pharmacokinetics 3, 202-215, 1978

BERKMAN, R.H.

Gentamicin - new broad spectrum antibiotic for treatment of canine urinary tract infections.

HENNESSEY, P.W.

HOUESHELL, J.W.

Vet.Med./Small Animal Clinician 66, 2, 135-137, 1971

BICKFORD, S.M.

Gentamicin concentrations in turkey eggs and in tissues of progeny following egg dipping.

LOY, J.I.

BARNES, L.E.

Avian Dis. 17, 2, 301-307, 1973

BLACK, J.

Pharmakology of gentamicin, a new broad spectrum antibiotic.

CALESNICK, B.

WILLIAMS, D.

Antimicrob. Agents Chemother. 138-147, 1963.

WEINSTEIN, M.J.

- BODJADZHIEVA, A. Svarz vane na gentamicina s kravnite beltachini.
DILOV, P. Vet.-med. Nauki, Sofija, 14, 6, 27-32, 1977
- BURROWS, G.E. Gentamicin
J.Am.vet.med.Assoc. 175, 3, 301-302, 1979
- BUSH, M. Preliminary pharmacokinetic studies of selected antibiotics in birds.
NEAL, L.A. Am.Assoc.Zoo.Vet.Ann.Proc. Honolulu, 45-47, 1977
CUSTER, R.S.
- BUSH, M. Gentamicin tissue concentration in various
LOCKE, D. avian species following recommended dosage
NEAL, L.A. therapy.
CARPENTER, J.W. Am.J.Vet.Res., 42, 12, 2114-2116, 1981
- BUSH, M. Pharmacokinetics of selected antibiotics in
avian species (a review).
25. Int.Symp. über Erkr.d.Zoot., Akademie-Verl. Berlin, 53-56, 1983
- CHISHOLM, G.D. Distribution of gentamicin in body fluids.
CALNAN, J.S. Brit.med.J. 2, 22-24, 1968
WATERWORTH, P.M.
- CLARK, C.Z. Clinical uses of gentamicin.
Med.vet.Prakt. 58, 9, 751-754, 1977
- CUSTER, R.S. Pharmacokinetics of Gentamicin in blood
BUSH, M. plasma of quail, pheasants and cranes.
CARPENTER, J.W. Am.J.Vet.Res. 40, 6, 892-895, 1979

- DAIGNEAULT, R. A comparison of two methods of genta -
GAGNÉ, M. micin assay: an enzymatic procedure and
BRAZEAU, M. an agar diffusion technique.
J.Inf.Dis. 130, 6, 642-645, 1974
- DORN, P. Handbuch der Geflügelkrankheiten.
Ulmer Verl. 112-118, 1971
- EBERT, U. Vogelkrankheiten, Zier- und Wildvögel,
Behandlung, Haltung, Pflege.
Verl.M. & H. Schaper, 2. Aufl., Hannover
1978
- EDWARDS, D.I. Antimicrobial drug action.
The MacMillan Press LTD, 22/64/69, 1980
- FARNER, D.S. Avian Biology, Volume II
KING, J.R. Academic Press, Inc., 528-546, 1972
PARKES, K.C.
- FISCHER, A.B. Gentamicin as a bactericidal antibiotic
in tissue culture.
Med.Microbiol. Immunol., Springer-Verl.
23-39, 1975
- FORTH, W. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und
HENSCHLER, D. Toxikologie.
RUMMEL, W. B.I.-Wissenschaftsverlag, 2. Aufl.
509-510, 1977
- GINGELL, J.C. Dose of gentamicin in patients with normal
WATERWORTH, P.M. renal function and renal impairment.
Brit.med.J. 2, 19-22, 1968

- GORDON, R.C. Serum protein binding of the aminogly -
REGAMEY, C. coside antibiotics.
KIRBY, W.M.M. Antimicrob. Agents Chemother. 2, 3,
214-216, 1972
- GYSELYNCK, A.-M. Pharmacokinetics of gentamicin: distri -
FORREY, A. bution and plasma and renal clearance.
CUTLER, R. J.Inf.Dis. 124, Suppl., 70-76, 1971
- HALLMANN, L. Klinische Mikrobiologie.
BURKHARDT, F. Georg Thieme Verl. Stuttgart, 4. Aufl.
648, 1974
- HARTWICH, M. Nachlaß 1982
- HOLMES, R.K. Enzymatic assay for gentamicin and related
SANFORD, J.P. aminoglycoside antibiotics.
J.Inf.Dis. 129, 5, 1974
- JONES, L.M. Veterinary pharmacology and therapeutics.
BOOTH, N.H. The Iowa State University Press, Ames,
MCDONALD, L.E. Iowa, 4. Auszg., 949-971, 1977
- MACDIARMID, S.C. The absorption of drugs from subcutaneous
and intramuscular injection sites.
Vet.bull. 53, 1, 9-23, 1983
- MAHON, W.A. Radioimmunoassay for measurement of genta -
EZER, J. micin in blood.
WILSON, T.W. Antimicrob. Agents Chemother. 3, 5, 585-589,
1973

- NIVAS, S.C. Antibiotic dipping studies in relation to
YORK, M.D. uptake, embryonic development and Arizona
POMEROY, B.S. hinshawii recoveries from turkey hatching
eggs.
Poult.Sci. 54, 5, 1597-1604, 1975
- NOONE, P. Experience in monitoring gentamicin
PARSONS, T.M.C. therapy during treatment of serious
PATTISON, J.R. gram-negative sepsis.
SLACK, R.C.B. Bri.med.J. 1, 477-481, 1974
GARFIELD-DAVIS, D.
HUGHES, K.
- OLESIUK, O.M. Chemotherapy studies of Salmonella typhi -
SNOEYENBOS, G.H. murium in chickens.
SMYSER, C.F. 44th Northeast.Conf.Avian Dis., Maryland,
379-389, 1972
- RIFF, L.J. Pharmacology of gentamicin in man.
JACKSON, G.G. J.Inf.Dis. 124, Suppl., 98-105, 1971
- SABATH, L.D. Rapid microassay of gentamicin, kanamycin,
CASEY, J.I. neomycin, streptomycin, and vancomycin in
RUCH, P.A. serum or plasma.
STUMPF, L.L. J. Lab.Clin.Med., 457-463, 1971
FINLAND, M.
- SAIF, Y.M. Treatment of turkey hatching eggs for con-
FERGUSON, L.C. trol of Arizona infection.
NESTOR, K.E. Avian Dis. 15, 3, 448-461, 1971

- SAIF, Y.M.
SHELLEY, S.M. Effect of gentamicin sulfate dip on
Salmonella organisms in experimentally
infected turkey eggs and test organisms.
Avian Dis. 17, 3, 574-581, 1973
- SCHULTZE, R.G.
WINTERS, R.E.
KAUFFMAN, H. Possible nephrotoxicity of gentamicin
J.Inf.Dis. 124, Suppl., 145-147, 1971
- SHANSON, D.C.
DANIELS, J.V. Factors effecting plate assay of gentami -
cin, I diluents.
J.Antimicrob.Chemother 1, 219-227, 1975
- SIEGMANN, O. Kompendium der Geflügelkrankheiten.
Verl. M. & H. Schaper, 3. Aufl., Hannover,
270-274, 1976
- SNOEYENBOS, G.H.
CARLSON, V.L. Gentamicin efficacy against Salmonella and
Arizona in eggs as influenced by admini -
stration route and fest organisms.
Avian Dis. 17, 4, 673-682, 1973
- SOLIS, J.
BARNETT, B.D. Effectiveness of gentamicin sulfate against
Paracolo bacterium Arizonae infection of tur -
key poults.
Poult.Sci. 49, 1668-1673, 1970
- SPREAT, S.R.
BICKFORD, S.M. Pharmacodynamics of gentamicin in day-old
chicks.
Proc. 26th East.Poult.Dis.Confer.Symp.
Davis California, 101-107, 1977

- STEPHENS, J.F. Gentamicin treatment of Arizona
7:1, 7, 8 (Paracolon) infection in
young turkeys.
Poult.Sci. 49, 1159-1163, 1970
- TRAUB, W.H. Nachweis von Chemotherapeutika in klini -
BÜCHLER, J. schem Untersuchungsmaterial mit Bacillus
SPOHR, M. subtilis Stamm ATCC 6633.
Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt.Orig.A 253,
76-80, 1982
- VERNIMB, G.D. Efficacy and safety of gentamicin sulfate
BACHMANN, H.J. in day-old leghorn broiler chicks.
BICKFORD, S.M. J.Am.vet.med.Assoc. 167, 865, 1975
LOY, J.I.
- VERNIMB, G.D. Effect of gentamicin on early mortality
BACHMANN, H. and later performance of broiler and leg -
PANITZ, E. horn chickens.
Avian Dis. 20, 4, 706-713, 1976
- WALTER, A.M. Antibiotika Fibel.
HEILMEYER, L. Georg Thieme Verl. Stuttgart, 3.Aufl.
423-434, 1969
- WARREN, E. Four-hour microbiological assay of genta -
SNYDER, R.J. micin in serum.
WASHINGTON II, J.A. Antimicrob. Agents Chemother. 1, 1,
46-48, 1972
- WATANAKUNAKORN, C. Penicillin combined with gentamicin or
streptomycin: synergism against Entero -
cocci.
J.Inf.Dis. 124, 6, 581-586, 1971

9. Kürzelverzeichnis

Abb. Abbildung

G. Gentamycin

KGW Körpergewicht

p.appl. post applicationem

Herrn Prof.Dr.J.Kösters danke ich sehr herzlich für die Über -
lassung des Themas und die unermüdliche Unterstützung bei der
Durchführung und Auswertung der Versuche.

Frau Prof.Dr.I.Gylstorff danke ich für die Diskussion bei der
Auswertung der histologischen Arbeiten.

Im Gedenken sei Monika Hartwich erwähnt, aus deren Nachlaß ich
einen Teil der Untersuchungen und der Literatur entnahm.

Den Mitarbeiterinnen des Antibiotikallabors des Institutes für
Mikrobiologie im Klinikum Rechts der Isar sei für ihre große
Hilfe bei der Einarbeitung am TD_x - Gerät gedankt.

Allen Mitarbeitern des Institutes, ganz besonders Herrn Karl
Krämer, Dr. Martin Siebentritt und Dr.J.R. Jakoby danke ich
für die stets freundliche Hilfe.

Lebenslauf

Sibylle Sabrautzki	geboren am 16. November 1957 in Coburg
Eltern	Kurt Sabrautzki, Ingenieur und Christa Sabrautzki, geb. Seidler
September 1964	Eintritt in die Volksschule in Coburg
September 1968	wegen Versetzung des Vaters Eintritt in die deutsche Botschaftsschule in Istanbul
September 1969	Wechsel in das Deutsche Gymnasium in Istanbul
September 1970	Eintritt in das Gymnasium in Pfarrkirchen
September 1971	Wechsel in das Gymnasium Alexandrinum in Coburg
August 1972	Eintritt in das Albertus-Magnus-Gymnasium Friesoythe
Mai 1977	Abitur
November 1977	Beginn des Studiums der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
November 1982	Tierärztliche Prüfung

